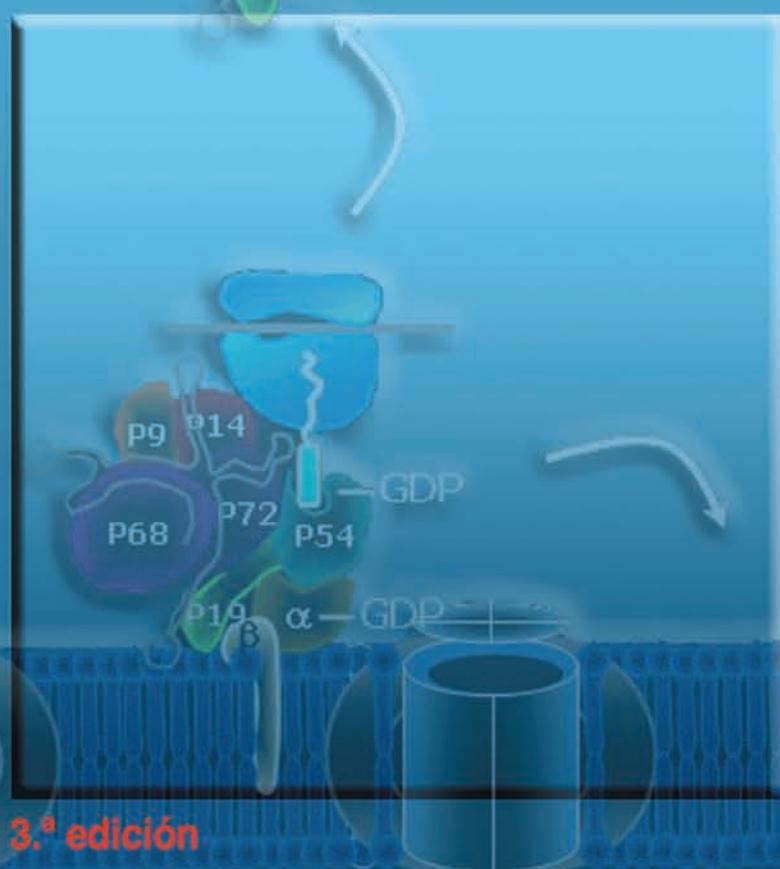


BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR

para ciencias de la salud



J. A. Lozano
J. D. Galindo
J. C. García-Borrón
J. H. Martínez-Liarte
R. Peñafiel
F. Solano

**Mc
Graw
Hill**

McGRAW-HILL • INTERAMERICANA

**BIOQUÍMICA
Y BIOLOGÍA MOLECULAR**
para ciencias de la salud

3.^a edición

**BIOQUÍMICA
Y BIOLOGÍA MOLECULAR**
para ciencias de la salud

3.^a edición

J. A. Lozano Teruel
J. D. Galindo Cascales
J. C. García-Borrón Martínez
J. H. Martínez-Liarte
R. Peñafiel García
F. Solano Muñoz



McGRAW-HILL • INTERAMERICANA

MADRID • BUENOS AIRES • CARACAS • GUATEMALA • LISBOA • MÉXICO
NUEVA YORK • PANAMÁ • SAN JUAN • BOGOTÁ • SANTIAGO • SÃO PAULO
AUCKLAND • HAMBURGO • LONDRES • MILÁN • MONTREAL • NUEVA DELHI • PARÍS
SAN FRANCISCO • SYDNEY • SINGAPUR • ST. LOUIS • TOKIO • TORONTO

BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR PARA CIENCIAS DE LA SALUD

*No está permitida la reproducción total o parcial de este libro,
su tratamiento informático, la transmisión de ninguna otra forma o por
cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, por fotocopia, por registro
u otro métodos, sin el permiso previo y por escrito de los titulares del Copyright.*

Derechos reservados © 2005, respecto a la tercera edición en español, por
J. A. LOZANO y cols.

McGRAW-HILL - INTERAMERICANA DE ESPAÑA, S.A.U.

Edificio Valrealty
c/ Basauri, 17 1.^a planta
28023 Aravaca (Madrid)

ISBN: 84-486-0642-6
Depósito legal:

Diseño de cubierta e interior: Pere Lluis León
Preimpresión: Fer. C/ Bocángel, 45 - 28028 Madrid
Impreso en:

IMPRESO EN ESPAÑA - PRINTED IN SPAIN

AUTORES

JOSÉ ANTONIO LOZANO TERUEL

Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular

JESÚS DAVID GALINDO CASCALES

Profesor Titular de Bioquímica y Biología Molecular

JOSÉ CARLOS GARCÍA-BORRÓN MARTÍNEZ

Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular

JOSÉ HILARIO MARTÍNEZ-LIARTE

Profesor Titular de Bioquímica y Biología Molecular

RAFAEL PEÑAFIEL GARCÍA

Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular

FRANCISCO SOLANO MUÑOZ

Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular

COLABORADORES

PILAR GARCÍA PEÑARRUBIA

Profesora de Inmunología

CELIA JÍMENEZ-CERVANTES FRIGOLS

Profesora Titular de Bioquímica y Biología Molecular

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular (B) e Inmunología

Universidad de Murcia. España

OTROS TÍTULOS DE INTERÉS

Fox.- Fisiología humana 7.^a edición

- Descripción concisa de la fisiología.
- Libro muy didáctico y ameno.
- Información muy actualizada y adecuadamente organizada.
- Incorpora casos prácticos con aplicaciones clínicas.
- Imprescindible para estudiantes de ciencias de la salud

McKee.- Bioquímica. La base molecular de la vida 3.^a edición

- Este libro proporciona una introducción lógica a la Bioquímica, muy accesible al estudiante.
- Destaca las raíces experimentales de la Bioquímica e incluye fundamentos históricos y de investigación.
- Excelente material gráfico a todo color (más de 700 ilustraciones) como complemento del texto.
- «Conceptos clave» en los margenes que ayudan a clarificarlos.
- Al final de cada capítulo resume los aspectos tratados y ofrece preguntas de autoevaluación.
- Apartado de «Métodos bioquímicos» en algunos capítulos que describen técnicas de laboratorio clásicas y actuales (tecnología de las proteínas, métodos de membrana, genómica...).
- «Recuadros de interés especial» para el estudiante que recogen información clínica relacionada con los temas bioquímicos más actuales.

Paniagua.- Biología celular 2.^a edición

- Selección actualizada de los conocimientos esenciales de la Biología celular, requeridos para la comprensión de la estructura de la célula y sus principales mecanismos vitales.
- Para completar el estudio del ciclo vital de la célula se incluye un apartado sobre muerte celular.
- El contenido parte de un estudio morfológico ensamblado con aspectos moleculares a nivel de estructuras.
- El texto se acompaña de abundante iconografía a todo color: esquemas, dibujos, microfotografías.

Griffiths.- Genética moderna 1.^a edición

- Libro de texto llamado a ser el «nuevo clásico» de la Genética.
- En primer lugar, establece la naturaleza molecular del material hereditario para después introducir los principios de la genética mendeliana en el contexto de las estructuras celulares y moleculares.
- Con el enfoque de esta obra, el estudiante comprueba cómo las ideas de la genética clásica y de la genética moderna se combinan en los diferentes niveles: los seres vivos, la célula, los cromosomas, las proteínas, los ácidos nucleicos.

Goldsby.- Inmunología 5.^a edición

- Recuadros de «enfoque clínico» en todos los capítulos, relacionados con las nuevas preguntas de enfoque clínico que aparecen al principio de la sección de preguntas de estudio de cada capítulo.
- Presenta las bases experimentales de la inmunología y las aplicaciones de la investigación de vanguardia en biología celular: presentación de antígenos, muerte celular, transducción de señales y biología de citocinas.
- Nueva cobertura de avances clínicos y técnicos:
 - a) Derivación de las vacunas contra el cáncer.
 - b) Agentes del terrorismo biológico y papel de la inmunología en el combate de esta amenaza.
 - c) Anticuerpos monoclonales específicos y citocinas con aplicación clínica.
 - d) Emergencia global continua por el SIDA.
 - e) Progreso y obstáculos para el uso de xenotrasplantes.
 - f) Técnicas nuevas como análisis de microdistribución y la marca del tetrámetro del MHC.

Cervera.- Alimentación y dietoterapia 4.^a edición

- Texto introductorio en alimentación, nutrición y dietoterapia.
- Claro, completo, riguroso y bien organizado.
- Entre las novedades que aporta destacan: avances científicos en la utilización de la fibra incluida en nuevos productos; alimentos funcionales (probióticos y prebióticos); guías alimentarias o dietéticas; tablas de composición de alimentos; seguridad alimentaria; la industria agroalimentaria; alimentos y antioxidantes; novedades en diabetología y dietas para las enfermedades del sistemas nervioso.

McArdle.- Fundamentos de fisiología del ejercicio 2.^a edición

- Autores de reconocido prestigio internacional.
- De forma concisa y clara, trata los temas con un estilo muy didáctico no sólo por los numerosos esquemas, cuadros y fotografías, sino también por la organización de su contenido.
- Excelente material gráfico.
- Expone la base teórica para comprender aspectos fundamentales de los requerimientos nutricionales en el deporte.
- Los temas clínicos ofrecen una visión aplicada de los conocimientos teóricos.
- Actualizado con las últimas investigaciones respecto a los temas que trata.

CONTENIDO

Parte I. BIOQUÍMICA: ESTRUCTURA Y METABOLISMO

Sección I. El escenario bioquímico

Capítulo 1. Bioquímica y biología molecular: orígenes y desarrollo como ciencias específicas	5
Capítulo 2. Argumento y actores: vida, átomos y moléculas	19
Capítulo 3. Un protagonista excepcional: el agua.....	29
Capítulo 4. Las reglas: metabolismo y bioenergética.....	49

Sección II. Estructuras y funciones de las biomoléculas

Capítulo 5. Hidratos de carbono.....	61
Capítulo 6. Lípidos.....	75
Capítulo 7. Aminoácidos y proteínas	91
Capítulo 8. Ácidos nucleicos.....	117
Capítulo 9. Enzimas	133
Capítulo 10. Membranas biológicas.	159

Sección III. Metabolismo energético

Capítulo 11. Nutrición, absorción y transporte	173
Capítulo 12. Mecanismos hormonales de regulación metabólica. La transducción de señales	191
Capítulo 13. Obtención y aprovechamiento de la energía.....	205
Capítulo 14. Metabolismo de los hidratos de carbono	223
Capítulo 15. Metabolismo de los lípidos y las lipoproteínas	249
Capítulo 16. Metabolismo nitrogenado	275
Capítulo 17. Regulación e integración metabólica.....	303

Parte II. BIOLOGÍA Y PATOLOGÍA MOLECULAR

Sección IV. La información genética

Capítulo 18. La organización del material genético.....	319
Capítulo 19. Biosíntesis del ADN: replicación, recombinación y reparación.....	329
Capítulo 20. Síntesis del ARN: transcripción.....	349
Capítulo 21. Biosíntesis de las proteínas: traducción.....	361
Capítulo 22. Regulación de la expresión génica	381

Sección V. Genoma, patología molecular y terapia génica

Capítulo 23. Análisis molecular del genoma	401
Capítulo 24. Proyecto Genoma Humano y Genómica	419
Capítulo 25. Patología molecular y terapia génica	431

Sección VI. Biología molecular y celular

Capítulo 26. Modificación postraduccional y tráfico intracelular de proteínas	449
Capítulo 27. Aspectos moleculares del crecimiento y la diferenciación celular.....	469
Capítulo 28. Bioquímica de los virus	488
Capítulo 29. Cáncer. Aspectos moleculares	501

Parte III. EL NIVEL MOLECULAR EN BIOMEDICINA

Capítulo 30. Bioquímica de la sangre	519
Capítulo 31. La respuesta inmunitaria.....	541
Capítulo 32. Fenómenos contráctiles, contracción muscular y actividad física.....	561
Capítulo 33. Neurotransmisión y sistemas sensoriales	581
Capítulo 34. Bioquímica del tejido conjuntivo. Aplicaciones podológicas.....	613
Capítulo 35. Tejidos calcificados	637
Capítulo 36. Bioquímica del medio bucodental	653
Capítulo 37. Bioquímica analítica.....	667
Capítulo 38. Aspectos biológicos y moleculares del envejecimiento	677
Capítulo 39. Origen de la vida y evolución bioquímica.....	689

Parte IV. APÉNDICES

Siglas y abreviaturas utilizadas a lo largo de este libro.....	703
Respuestas a las evaluaciones	709
Glosario de términos usados en Bioquímica y Biología Molecular.....	725
Algunas técnicas instrumentales en Biología Molecular y Proteómica	745
Fuentes	751
Contenido del CD-ROM de acompañamiento	757

ÍNDICE ANALÍTICO	759
-------------------------------	------------

PREFACIO a la tercera edición

Hace diez años, la editorial McGrawHill-Interamericana publicó la primera edición de nuestro libro *Bioquímica para ciencias de la salud*. Cinco años después apareció la segunda edición, con el nombre de *Bioquímica y Biología molecular para ciencias de la salud*. Transcurridos otros cinco años nace esta nueva, tercera edición. El propósito de los autores sigue siendo hoy el mismo que exponíamos hace diez años, el de buscar un enfoque factible y cómodo de la enseñanza y del aprendizaje de estas materias, para que resulte de la mayor utilidad posible a quienes en el futuro tendrán la responsabilidad de ejercer las tareas del cuidado de la salud en sus diversos niveles. En todo caso, tenemos que reiterar nuestra satisfacción por la cálida acogida depurada a nuestra obra por parte de profesores y alumnos de centros educativos muy diferentes (Diplomaturas y Licenciaturas) de España e Iberoamérica, lo que obligó a la realización de varias reimpresiones de las dos ediciones anteriores.

En todas las ediciones nuestro principal objetivo ha sido lograr una obra práctica para alumnos y profesores, huyendo de lucimientos de erudición o de presentaciones fascinantes pero poco didácticas. Hemos pretendido integrar los diversos temas en forma de exposiciones concisas, pero con suficiente contenido para la finalidad pretendida: aportar un conocimiento básico, claro, actual e integrado del vasto y complejo mundo de los aspectos moleculares de la biomedicina. Para ello, se ha intentado mantener, mejorándolas, las características positivas de las ediciones anteriores destacadas por algunos amables evaluadores: enfoque biomédico, con abundantes recuadros específicos a lo largo de los capítulos; ilustraciones didácticas; claridad de exposición y línea argumental definida, sin perderse en los detalles; amenidad; rigor científico y originalidad; adaptabilidad a diferentes cursos, diplomaturas y licenciaturas. Todo ello presentado en un formato de libro amigable, práctico, ajustado de tamaño y de precio asequible.

En esta tercera edición, los cambios más importantes que se pueden destacar son:

- Mejor presentación, con aumento del formato.
- Mayor número de recuadros biomédicos actualizados y específicos en cada capítulo.
- Cuatro nuevos capítulos, con distribución de los 39 del libro en tres partes y siete secciones. La primera, **Estructura y metabolismo**, supone cerca del 40% de la extensión total de la obra y comprende 17 capítulos, repartidos en tres secciones: *El escenario bioquímico* (4 capítulos), *Estructura y funciones de las biomoléculas* (6 capítulos) y *Metabolismo energético* (7 capítulos). La segunda, **Biología y patología molecular**, comprende las tres secciones siguientes: *La información genética* (5 capítulos), *Genoma, patología molecular y terapia génica* (3 capítulos) y *Biología Molecular y Celular* (4 capítulos). En cuanto a la última parte, **El nivel molecular en biomedicina**, está integrada por 10 capítulos en los que se tratan con más amplitud temas de interés para titulaciones específicas. Así, el capítulo 32 estudia los fenómenos contráctiles, la contracción muscular y la actividad física; el capítulo 34, muy renovado en esta edición, se dedica a la bioquímica del tejido conjuntivo y sus aplicaciones podológicas; los capítulos 35 y 36, a los tejidos calcificados y la bioquímica del medio bucodental; el capítulo 37, a las determinaciones analíticas; y un nuevo capítulo, el 38, aborda los aspectos moleculares del envejecimiento.

Todos los capítulos han sido actualizados y, algunos de ellos, reescritos en su totalidad. Como nuevos capítulos en esta edición, aparte de los ya comentados, señalaremos: el capítulo 1, como introducción general, que resume los orígenes y el desarrollo como ciencias específicas de la Bioquímica y la Biología Molecular; el capítulo 24, dedicado al proyecto genoma humano y la genómica; dos capítulos de la nueva Sección VI, concretamente el 26, de gran actualidad, sobre modificación postraduccional y tráfico intracelular de proteínas, y el profundamente actualizado capítulo 27 sobre aspectos moleculares del crecimiento y la diferenciación celular. También es una novedad el capítulo 39, final e integrador, dedicado al origen de la vida y la evolución bioquímica.

Sin olvidar el principal enfoque biomédico del libro, con carácter complementario e integrador se ha considerado oportunamente incluir, generalmente en forma de recuadros, algunas referencias a transformaciones y rutas metabólicas no presentes en los

seres superiores, siempre en el contexto del capítulo más adecuado: ciclo del glicoxilato, fotosistemas, ciclo de Calvin, asimilación del nitrógeno, etcétera.

En esta edición, al final de cada capítulo figuran: a) un resumen de recapitulación que esperamos tenga utilidad pedagógica; b) unas referencias bibliográficas específicas, y c) un ejercicio de evaluación con preguntas de respuestas múltiples de tres tipos. En la bibliografía se destacan, más que artículos muy específicos de investigación —que creemos de dudosa utilidad para los estudiantes que por vez primera se acercan a la Bioquímica—, referencias con facetas didácticas o científicamente estimulantes, con monografías y revisiones publicadas principalmente en revistas como *Investigación y Ciencia*, *Trends in Biochemical Sciences* o *Biochemical and Molecular Biology Education*. Además, en el Apéndice de Fuentes, se incluye una bibliografía general en español comentada, así como una selección de portales de Internet del ámbito iberoamericano con interés docente. Las soluciones comentadas a los ejercicios de evaluación figuran en el Apéndice correspondiente.

En otro Apéndice se resumen algunas de las nuevas técnicas instrumentales en Bioquímica y Biología Molecular, especialmente las relacionadas con la proteómica. Asimismo, en forma de Apéndices, se incluyen un nuevo glosario de términos, sobre todo de Biología Molecular, así como una lista de siglas y abreviaturas.

Una importante novedad de esta tercera edición es el CD-ROM que acompaña al libro. Se trata de un material auxiliar con varias decenas de demostraciones informáticas sobre diversas materias del libro, elaborado, bajo la dirección de la profesora Pilar Roca Salom, por el grupo de Metabolismo y Nutrición del Departamento de Biología Fundamental y Ciencias de la Salud de la Universidad de las Islas Baleares. Sin duda, se trata de uno de los grupos españoles con mayor y mejor experiencia en la preparación de material didáctico informático de Bioquímica y Biología Molecular, por lo que deseamos agradecer el entusiasmo y la dedicación de la profesora Roca y sus colaboradores para conseguir un resultado que creemos será de gran utilidad para los alumnos. También a la profesora Roca hemos de expresar nuestra más profunda gratitud por su amabilidad al acceder a prologar este libro.

Como en las ediciones anteriores, volvemos a reiterar ciertos agradecimientos: por sus colaboraciones específicas en esta edición a las profesoras Celia Jiménez-Cervantes Frigols (capítulos 1 y 26) y Pilar García Peñarrubia (capítulo 31); y a todos los profesores que, en el pasado, han considerado nuestro libro útil para la docencia y lo han incluido entre la bibliografía recomendada a sus alumnos. Esperamos que a ellos, como al resto de los profesores de la disciplina, esta nueva edición les resulte de la misma o mayor utilidad. A McGraw-Hill/Interamericana agradecemos la confianza depositada en nosotros. Por último, de un modo especial, damos las gracias a los destinatarios finales, los estudiantes de ciencias biomédicas, que son la principal razón de nuestro trabajo, deseando haber podido ser útiles en su formación en el pasado o que podamos serlo en el presente y el futuro.

LOS AUTORES

PRÓLOGO a la primera edición

Cuentan que un violín oyó cantar a un ruiseñor. El pájaro producía registros inauditos para el violín: gorjeos, trinos, floreos agudos y alegres. El violín tuvo envidia y quiso cantar como el ruiseñor; al ver que no podía imitarlo, le preguntó: «tú, de qué estás hecho?» El pajarillo le respondió: «¿y tú?». El violín, que había tocado delante de reyes manejado por las manos más virtuosas de la época, se molestó por aquella insolencia del ruiseñor y le respondió: «yo estoy hecho de la más fina haya alemana, mis cuerdas están bien templadas, tengo 69 piezas, y no hay dinero para pagar el arco que obtiene mis notas timbradas y brillantes». El ruiseñor siguió cantando, el día era soleado y tenía ganas de mostrar al viento primaveral que en un rincón del bosque de brezos y jarales se puede oír el mejor concierto. El violín insistió: «¿pero, de qué estás hecho? Entonces el ruiseñor le contestó: «yo tengo el alma de la música...» y comenzó a volar.

Podemos saber, y de hecho conocemos, las piezas de las que está compuesto un violín, así como su estructura compleja. Tal vez, en breve tiempo, podamos saber el conjunto de biomoléculas que componen el cuerpecillo del pájaro. Lo que nunca llegaremos a entender es su respuesta enigmática: «yo tengo el alma de la música». La Bioquímica es una ciencia que nos lleva a profundizar en los componentes moleculares de los seres vivos. No sólo nos asombra, como en el cuento, el canto del pajarillo, sino que también admiramos el color de las flores, el verdor fresco del bosque, la piel lisa de los felinos, el bullir de peces en el arrecife de coral, o la mirada inteligente de un niño. Y nuestro asombro nos lleva a preguntarnos: ¿de qué estás hechos? Cada vez que cae en mis manos un nuevo libro de Bioquímica casi lo devoro con pasión. Aunque estoy seguro de que con los análisis precisos de la Bioquímica y Biología molecular actual no llegaremos a entender qué es la vida, sin embargo, cada vez nos acercamos más a comprender los fenómenos que se manifiestan en los seres vivos. La vida y, sobre todo, la vida humana queda envuelta también en el alma de la música. Hay aspectos del acontecer humano, quizás más profundos para el hombre, que no son susceptibles de análisis; pero también es verdad que en la medida en que vayamos descubriendo los aspectos moleculares del ser humano, más y más iremos profundizando en el conocimiento del hombre, aunque nunca llegamos a agotar toda su riqueza. Ni siquiera el «Proyecto Genoma Humano», cuyo fin es darnos a conocer la secuencia completa de los nucleótidos que conforman el conjunto de la herencia, nos podrá dar una visión completa del hombre como sujeto y como persona.

El libro *Bioquímica para las Ciencias de la Salud*, cuya edición ha dirigido el Profesor José Antonio Lozano, siendo él mismo autor de varios capítulos, viene a llenar un hueco en la literatura bioquímica en lengua española. A veces, el bosque no nos deja ver los árboles, como el corte cerebral no nos deja ver cada una de las neuronas, y es necesario ir al bosque jovén. Existen en español magníficas obras originales, o traducidas, de Bioquímica y Biología molecular, cuyas últimas ediciones suelen ocupar un par de gruesos volúmenes. El presente libro, sin perderse en muchos detalles, va llevando al lector en los primeros capítulos, por una línea argumental, la propia de la Bioquímica, que responde a la pregunta del violín: «¿tú, de qué estás hecho?» El análisis químico es el nuevo escalpelo con el que se van disecando todos y cada uno de los componentes del ser vivo y, en este caso, los componentes químicos del cuerpo humano: las biomoléculas nitrogenadas, los péptidos, las proteínas, los carbohidratos, los componentes lipídicos y las membranas celulares. Este enfoque analítico se completa con un enfoque sintético, en el que se considera al ser humano vivo como un sistema abierto en continuo intercambio de *materia, energía e información* con el exterior, que responde siempre como un todo. El violín solo no podía tocar; necesitaba del arco y de la mano del pajarillo. El violín no estaba vivo a pesar de la brillantez de su música. El pajarillo que tenía el alma de la música, echo a volar a la vez que cantaba; el ruiseñor estaba vivo.

Desde las páginas de un libro de Bioquímica no se puede responder a las preguntas ¿qué es la vida? y, mucho menos, ¿en qué consiste la vida humana?, pero sí se pueden aclarar, en términos moleculares, muchas de las disfunciones que llevan al ser humano a la enfermedad. Igualmente, los capítulos finales de este libro, dedicados al metabolismo energético del ejercicio muscular, la visión, la neurotransmisión, el crecimiento y la diferenciación celular, y la carcinogénesis, tienen un especial interés, sobre todo para el sanitario que quiere adquirir una sólida formación bioquímica.

El profesor José Antonio Lozano es uno de los hombres que están convencidos de que la profundidad de los conceptos no está reñida con la claridad en la exposición. Un dilatado «oficio de docencia» le ha premiado con el don de saber acercar la ciencia

cia a sus alumnos. Muchos años de colaboraciones con temas de divulgación científica en el diario *La Verdad* de Murcia son la prueba más fehaciente de que posee el don de saber comunicar y dialogar con el lector, así como salir al paso de las dudas que puedan aflorar en su mente e intentar aclararlas con ejemplos sencillos. Es muy difícil, para el que no esté familiarizado con la química, llegar a entender qué puede significar una concentración tan pequeña como 10^{-10} M, la concentración a la que suelen actuar esas señales químicas que llamamos hormonas. Sin embargo, todo el mundo es capaz de comprender qué poco azucarada estará el agua después de haber disuelto una cucharada de azúcar en un volumen equivalente a 3000 piscinas!

A un libro como el presente se le pediría: *claridad, amenidad, rigor científico y originalidad*. La claridad, a pesar de la complejidad de los conceptos, la tiene asegurada el lector; el estudiante de titulaciones biomédicas a los que va dirigido el libro observará que los temas se van desarrollando uniéndose entre sí por etapas lógicas y con referencias a lo expuesto en otros capítulos. A los tópicos que se describen en los libros de Bioquímica les suele pasar, por cierta isomorfía, lo que pasa a las moléculas en los seres vivos: las moléculas aisladas por sí mismas son inertes; cuando se engarzan entre sí en estructuras jerarquizadas, van desvelando algo tan fascinante como los fenómenos de la vida. El libro debe leerse en su conjunto, para lo que no le falta la amenidad y la originalidad. La estructuración jerarquizada de los temas y la continua referencia a lo expuesto en otras partes irá aclarando las dificultades al lector.

Se le suele achacar al gran científico Albert Szent Györgyi el comentario de que, desde el punto de vista bioquímico, no hay diferencia entre un rey y una lechuga. Aunque la afirmación tiene su gran parte de verdad, en lo que respecta a las líneas generales que vertebran el metabolismo celular, sin embargo, actualmente sabemos que en la comprensión de los seres vivos es tan importante el estudio de los aspectos unitarios, como el de las particularidades de cada especie. A lo largo de la presente obra, el lector observará que se hace un especial hincapié en las particularidades de la bioquímica humana. En el capítulo dedicado a la nutrición se estudia el valor energético de los alimentos, la digestión y absorción de los mismos, las funciones y disfunciones del páncreas humano, así como las adaptaciones de los procesos implicados en la alimentación humana durante el desarrollo. El capítulo dedicado a la carcinogénesis va introduciendo al lector, de manera fluida, desde el metabolismo peculiar de la célula tumoral a los temas más actuales de la Biología molecular del cáncer: protooncogenes, oncogenes y genes supresores. Los libros generales de Bioquímica no suelen dedicar capítulos especiales a problemas bioquímicos más particulares, como el metabolismo y patología del medio bucodental, la contracción muscular y ejercicio físico, el estudio de los tejidos calcificados y aquellos que interesan especialmente al fisioterapeuta o al podólogo.

La gestación de un libro es una empresa larga y difícil a pesar del entrenamiento que supone para los autores muchos años de docencia. El hecho de recopilar la obra de varios especialistas y dotarla de una unidad común exige una pericia especial. Estoy seguro de que los lectores agradecerán el esfuerzo realizado para dotarla de claridad, amenidad y originalidad, así como el rigor científico. Los pájaros seguirán volando y cantando para conocer sus biomoléculas, las enzimas que presiden sus reacciones, sus pasos metabólicos, ni los puntos de control de las secuencias de reacciones. Los seres humanos seguimos avanzando en nuestro conocimiento de los fenómenos de la vida de manera vertiginosa. Para el estudioso de la Bioquímica y Biología molecular es casi imposible mantenerse al día en los avances de los descubrimientos que se van sucediendo en los diferentes laboratorios del mundo. A pesar de esto, el engarce de todos los conocimientos de forma clara y sencilla, como en la presente obra, nos va descubriendo que tienen una armonía interna tan bella como la del canto del ruiseñor que el violín escuchó

IGNACIO NÚÑEZ DE CASTRO
Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular
Universidad de Málaga

PRÓLOGO a la tercera edición

Ya desde mi infancia tenía la necesidad de conocer: ¿De qué están hechas las cosas? ¿Cómo funcionan? Normalmente, frente a cualquier juguete o artilugio que llegara a mis manos, mi curiosidad me llevaba a abrirla, mirarlo por dentro y analizar los mecanismos que lo hacían funcionar. Una vez resuelto el problema, mi interés por él decaía y se centraba en otro. Con los años, mi atención se centró en conocer cómo funcionan los seres vivos, complejo artilugio... Pero en las últimas décadas, una disciplina ha permitido encauzar no tan sólo mi curiosidad y atención, sino las de muchas personas en el mundo: la Bioquímica y la Biología molecular.

En los últimos años los numerosos descubrimientos de los procesos vivientes y la dilucidación del genoma humano hacen que la base molecular de la vida tenga cada vez más trascendencia en las ciencias de la salud. A modo de ejemplo, basta con constatar que de los últimos cinco Premios Nobel de Fisiología y Medicina, cuatro representan contribuciones relacionadas con la Bioquímica y la Biología molecular. Günter Blobel recibió este galardón en el año 1999 por descubrir que las proteínas poseen señales intrínsecas que gobiernan su transporte y situación en la célula. En el 2000, Arvid Carlsson, Paul Greengard y Eric R. Kandel fueron premiados por sus investigaciones sobre el funcionamiento molecular del cerebro. Un año más tarde, Leland H. Hartwell, R. Timothy Hunt y Paul M. Nurse fueron galardonados por sus estudios sobre el ciclo celular. La contribución de Sydney Brenner, H. Robert Horvitz y John E. Sulstonde a la comprensión del papel de la regulación genética en el desarrollo de los órganos y la apoptosis fue premiada en el año 2002. El último Premio Nobel reconocía los descubrimientos de Richard Axel y Linda B. Buck sobre los receptores del olfato y la organización del sistema olfativo.

Así que mi fortuna ha sido encontrar una vía para mantener la atención de mi curiosidad y mis esfuerzos, ya que aunque son muchas las preguntas que hoy en día pueden contestarse, quedan todavía muchas por contestar. En los últimos veinte años de mi vida, no sólo he alimentado mi curiosidad, sino que además he podido, por mi actividad docente, ayudar a otros a resolver sus propias preguntas y a la vez plantearse nuevos retos, nuevas cuestiones. En este camino he encontrado un gran número de ayudas, entre las que puedo señalar la aportación que en el año 1995 realizaba un grupo entusiasta de profesores de la Universidad de Murcia, dirigidos por el profesor José Antonio Lozano, con la publicación del libro de *Bioquímica para ciencias de la salud* de la editorial McGraw-Hill/Interamericana. En esa primera edición, al final de la presentación y a modo de invitación, podía leerse:

«Sólo nos queda invitar al lector a que pase la página y se adentre en ese fascinante mundo en el que unas moléculas, inertes en sí mismas cuando se encuentran aisladas, mantienen y perpetúan ese maravilloso fenómeno que conocemos como vida».

La gran aportación de esta obra fue y es el enfoque. Así, esgrimiendo las mismas palabras que utilizaban sus autores en la presentación de la segunda edición de *Bioquímica y Biología Molecular para ciencias de la salud* podemos entender su finalidad:

«Un libro amigo, de manejo, consulta y estudio cómodos; todo ello encaminado a ayudar a los profesores en nuestra continua lucha contra la nefasta costumbre del empleo de apuntes como base teórica o contra el uso minimista de caros, excepcionales, pero extensísimos libros de texto, que los alumnos apenas leen.»

Las dos primeras ediciones han tenido tanto éxito que se ha convertido en un libro utilizado por numerosos estudiantes. Hoy, diez años más tarde, los autores nos presentan la tercera edición, mejorada y actualizada. El resultado es un libro que mantiene la característica principal de las dos ediciones anteriores, su elevado valor didáctico, donde priman el conocimiento y la manera de presentarlo sobre el lucimiento personal. Además, los autores mantienen la estructura que tanta aceptación ha tenido para un número importante de profesores y alumnos de Bioquímica y Biología Molecular: conocimientos básicos acompañados de aplicaciones en el campo de la medicina.

Esta tercera edición aparece en un momento realmente crucial, en el que muchos de nosotros tenemos que enfrentarnos a un número importante de apasionantes retos: rápida generación de nuevos conocimientos, nuevas técnicas y metodologías, nuevos sistemas de enseñanza (convergencia Europea y créditos ECTS), nuevas habilidades de los alumnos, nuevos canales de comunicación...

Este libro se convierte, por tanto, en una aportación oportuna y necesaria para la preparación de los futuros profesionales de ciencias de la salud en este nuevo siglo, donde la Bioquímica y la Biología Molecular se constituirán en una de las piedras angulares en el desarrollo de su actividad profesional, y además les permitirá hacer frente a los retos de esta era molecular.

Aunque podemos encontrar un gran número de buenos libros de Bioquímica y Biología molecular en el mercado, en la mayoría de los casos son demasiado extensos y detallistas y escasamente enfocados a las ciencias de la salud. Todo esto provoca a menudo que los alumnos de estas áreas desistan de su utilización, ya que les supone un esfuerzo de síntesis importante y no ven la necesidad de adquirir unos conocimientos tan detallados. Pero no son únicamente los alumnos los que se benefician de la edición de este libro, sino también los profesores que debemos dar clases a los primeros cursos de diversos estudios de ciencias de la salud. Nos es difícil encontrar textos de apoyo a nuestra labor, por lo que podemos caer en la tentación de ofrecer una visión demasiado minuciosa, distayéndonos del objetivo fundamental que es dar una buena formación de base y mostrar la utilidad de las aplicaciones a las ciencias de la salud de los conceptos de la Bioquímica y la Biología Molecular.

La navegación a través de las páginas de esta nueva edición permite darnos cuenta del buen criterio de los autores a la hora de estructurar y desarrollar los diferentes temas. Así, el libro se estructura en tres grandes bloques: Bioquímica (estructura y metabolismo), Biología y Patología Molecular y nivel molecular en Biomedicina. En un primer bloque los autores nos dan los conceptos y fundamentos de la Bioquímica. En un segundo bloque las protagonistas son la Biología Molecular y la Patología Molecular, presentando temas de gran actualidad (terapia génica, los aspectos moleculares del crecimiento y la diferenciación celular, la bioquímica de los virus y las bases moleculares del cáncer). El libro finaliza con un bloque cuyo eje central es la Biomedicina a nivel molecular, y que introduce ejemplos muy concretos de aplicación a las ciencias de la salud: la bioquímica de la sangre, la respuesta inmunitaria, los fenómenos contráctiles, la contracción muscular y la actividad física, la neurotransmisión y los sistemas sensoriales, la bioquímica del tejido conjuntivo (aplicaciones podológicas), los tejidos calcificados, la bioquímica del medio bucodental, las determinaciones analíticas, los aspectos moleculares del envejecimiento y el origen de la vida y la evolución bioquímica.

Los recursos pedagógicos que acompañan a la edición son un valor añadido. Los resúmenes al final de cada capítulo constituyen una ayuda importante para que los estudiantes puedan repasar y relacionar los conceptos presentados en cada tema. Los continuos recuadros biomédicos permiten al lector darse cuenta de la importancia de los fundamentos básicos de la Bioquímica y la Biología Molecular en el conocimiento, el diagnóstico y el tratamiento de diferentes patologías. Las preguntas de autoevaluación, un glosario con más de 750 términos, un gran número de referencias bibliográficas de interés, direcciones de sitios Web...

La distribución, el desarrollo y la utilización de recursos y herramientas por parte de los autores muestran no sólo un conocimiento profundo y actualizado de los temas, sino también una capacidad pedagógica encomiable. Así, en su conjunto, esta obra demuestra la preparación de los autores y su vocación docente, que sin duda ha sido una de las claves que han hecho que este libro haya sido tan bien aceptado.

En resumen, el texto *Bioquímica y biología molecular para ciencias de la salud* de los profesores Lozano, Galindo, García-Borrón, Martínez-Liarte, Peñafiel y Solano es una obra ambiciosa, muy bien realizada y que ha de ser, y seguro que será, de gran utilidad para los alumnos y profesores de Bioquímica y Biología Molecular en ciencias de la salud. Por todo ello, ha sido para mí un honor y una satisfacción redactar esta líneas del prólogo; espero haber sido capaz de plasmar con palabras la gran labor realizada por los autores.

Así mismo, no quiero terminar este prólogo sin dar las gracias a los autores del libro en nombre de Jordi, Talía y en el mío propio, por dejarnos participar de su reto y permitirnos caminar junto a ellos en esta aventura. Confiamos en haber sido capaces de acertar en la filosofía y estrategia pedagógica de este libro y haber contribuido con nuestra aportación, el CD-ROM, a la labor de los autores.

PARTE I

BIOQUÍMICA: ESTRUCTURA Y METABOLISMO

Sección I: El escenario bioquímico

Sección II: Estructuras y funciones de las biomoléculas

Sección III: Metabolismo energético

SECCIÓN I

EL ESCENARIO BIOQUÍMICO

- Capítulo 1:** Bioquímica y biología molecular: orígenes y desarrollo como ciencias específicas
- Capítulo 2:** Argumento y actores: vida, átomos y moléculas
- Capítulo 3:** Un protagonista excepcional: el agua
- Capítulo 4:** Las reglas: metabolismo y bioenergética

BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR: ORÍGENES Y DESARROLLO COMO CIENCIAS ESPECÍFICAS

1.1 INTRODUCCIÓN

La Bioquímica es una ciencia relativamente joven. El término Bioquímica fue empleado por primera vez en 1858 por Kletzinsky en su libro *Compendium der Biochemie*, publicado en Viena. En 1903, Neuberg fue pionero al crear la primera Cátedra de Bioquímica (en Holanda). Sin embargo, los orígenes son anteriores, pues era considerada una rama derivada de la Medicina y de la Química antes de ser aceptada, a finales del siglo XIX y principios del XX, como una ciencia adulta con sus propios y poderosos métodos experimentales. Durante la segunda mitad del siglo XIX comenzaron a emplearse los términos de *Química Fisiológica* o *Química Biológica* para poder hacer referencia a «... otro capítulo de la Química General que estudia las leyes que presiden a las incisantes transformaciones de la materia en las plantas y en los animales, examinando los fenómenos de la organización», según consta en un texto de Química Biológica de la época (H-Ardieta, *Química Biológica aplicada a la higiene y la patología humanas*, Barcelona: M. Soler Ed., 1898). Era el comienzo de lo que un siglo más tarde constituiría lo que hoy conocemos como *Bioquímica y Biología Molecular*. El libro de Ardieta es, quizás, el primer libro de Química Biológica (o Bioquímica) en castellano, en cuyo prólogo el Decano de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona, el Dr. Giné y Partagás, escribía «... Nada valdría la Fisiología, así en lo normal como en lo patológico, si no desentrañase la intimidad de los movimientos moleculares que especializan las funciones». Es decir, a partir del siglo XIX, el conocimiento de la naturaleza molecular de los fenómenos biológicos era considerado imprescindible para conocer la fisiología y la patología, al menos por una élite científica.

1.2 CONCEPTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR

Desde finales del siglo XVIII hasta nuestros días, muchos investigadores han contribuido desde distintos puntos de vista y enfoques experimentales, al nacimiento, desarrollo y expansión de la Bioquímica y a la explosión de la Biología

Molecular. Sus observaciones y conclusiones han propiciado un vertiginoso adelanto en el conocimiento que hoy tenemos sobre las bases moleculares que subyacen a los procesos biológicos, tanto normales como en determinados estados de patología. Según el Diccionario de la Real Academia Española de la Lengua, Bioquímica es «*Parte de la Química que estudia la composición y las transformaciones químicas de los seres vivos*». En concreto, el objetivo fundamental de la Bioquímica consiste actualmente en estudiar la estructura, la organización y las funciones de los seres vivos desde el punto de vista molecular. Según los aspectos tratados, la Bioquímica se puede dividir en tres grandes apartados:

- Bioquímica estructural*: estudia la composición, conformación, configuración y estructura de las moléculas de la materia viva, relacionándolas con su función biológica.
- Bioquímica metabólica o metabolismo*: estudia las transformaciones, funciones y reacciones químicas que sufren o llevan a cabo las moléculas de la materia viva, así como los mecanismos de regulación de esas transformaciones.
- Biología molecular o genética molecular*: estudia la química de los procesos y las estructuras de las moléculas implicadas en el almacenamiento, la transmisión y la expresión de información genética, así como los mecanismos que los regulan.

1.3 BREVE CRONOLOGÍA DE LA BIOQUÍMICA Y BILOGÍA MOLECULAR

Como en otras áreas de la Ciencia, la Bioquímica y Biología Molecular, han progresado paso a paso. No podía ser de otra forma, dada la propia naturaleza del quehacer científico, críticamente celoso de la acumulación de pruebas experimentales antes de dar por establecida alguna teoría. Los períodos explosivos de avance no son, en la mayoría de los casos, más que la aceleración final de un tiempo previo de largas y pausadas exploraciones.

Para tener una visión rápida de los hallazgos que elevaron a la Bioquímica y la Biología Molecular a ciencias independientes y de su evolución hasta hoy, a continuación se resaltan cronológicamente algunos de estos descubrimientos. La lista de acontecimientos expuestos abarca el período comprendido entre el siglo XVIII y la actualidad. Se han agrupado en cinco bloques que han delimitado un proceso de esclarecimiento histórico peculiar, que ha propiciado el asombroso avance de la Bioquímica y la Biología Molecular hasta mostrárnoslas tal como hoy las conocemos.

1.3.1 Orígenes de la bioquímica

Los cimientos de la Bioquímica como ciencia independiente se forjan a finales del siglo XVIII y comienzos del XIX. Esta

revolución científica no se produjo sólo en el campo de las ideas sino también, en el de los métodos, instrumentos y formas de organizar la actividad científica y difundir sus resultados. Durante este período se desarrollaron los métodos cuantitativos que completaron y formularon las leyes fundamentales de las combinaciones químicas, a la vez que se aislaban compuestos orgánicos de los seres vivos y se identificaban componentes de los mismos, tratando de establecer relaciones con funciones orgánicas, como la respiración, la fermentación o la asimilación. Durante la segunda mitad del XIX, se elaboran las tres teorías que supondrán una revolución en la interpretación de los fenómenos biológicos: la teoría celular, la teoría de la evolución y la de la herencia. Los principales hitos de este período fueron los que se detallan en la Tabla 1-1.

Tabla 1-1. Orígenes de la Bioquímica

1747	Margraff descubre la sacarosa en la remolacha.
1770-74	Priestley descubre el oxígeno y demuestra que los animales lo consumen y las plantas lo producen.
1770-86	Scheele aísla la glicerina y los ácidos cítrico, málico, láctico y úrico, a partir de fuentes naturales.
1773	Rouelle aísla urea a partir de orina.
1779-96	Ingenhousz demuestra que la luz es imprescindible para que las plantas produzcan oxígeno. Observa que las plantas consumen CO ₂ .
1780-89	Lavoisier postula que respiración equivale a oxidación y mide por primera vez el consumo de oxígeno de un individuo.
1783	Spallanzani demuestra que la digestión de las proteínas es un proceso químico y no mecánico.
1786	Berthelot descubre la presencia de nitrógeno en tejidos animales.
1802	Lamarck propone, por primera vez, el término «biología».
1804	Proust aísla el azúcar de la uva.
1804	Dalton enuncia la teoría atómica.
1806	De Saussure hace el primer balance estequiométrico de los intercambios gaseosos durante la fotosíntesis.
1810	Vauquelin y Robiquet aíslan por primera vez un aminoácido, la asparagina.
1811	Gay-Lussac deduce la ecuación de la fermentación alcohólica.
1812	Berthelot mide la cantidad de amóniaco que se obtiene a partir de la carne y el queso.
1815	Kirchoff obtiene glucosa a partir de la hidrólisis del almidón.
1817	Biot descubre la actividad óptica.
1827	Pelletier y Caventou aíslan el pigmento verde de las hojas.
1828	Prout propone la división de los alimentos en azúcares, grasas y proteínas.
1830-40	Wöhler sintetiza un compuesto de naturaleza orgánica, urea, a partir de precursores inorgánicos, cianato de plomo y amoniaco.
1833	Liebig desarrolla técnicas de análisis cuantitativo, aplicables a sistemas biológicos para calcular su composición química.
1834-36	Payen y Persoz purifican la <i>amilasa</i> del trigo (<i>diastasa</i>).
1837	Eberle demuestra que el jugo gástrico digiere alimentos fuera del estómago y Schwann descubre la <i>pepsina</i> en el jugo gástrico.
1838	Berzelius sugiere el término <i>proteína</i> para ciertas sustancias nitrogenadas de células animales y vegetales. Además, propone la naturaleza catalítica de las fermentaciones.
1840	Mulder realiza los primeros estudios sistemáticos sobre proteínas.
1842	Schwann y Schleiden proponen la teoría celular de los seres vivos.
1845	Mayer enuncia la primera ley de la termodinámica y propone su aplicabilidad a los organismos vivos.
	Kolbe sintetiza ácido acético a partir de sus elementos.

(Continúa en la página siguiente)

1850	Virchow demuestra que toda célula viva deriva de otra.
1850-55	Bernard descubre que el jugo pancreático es capaz de degradar almidón, proteínas y grasas. Posteriormente comprueba que el hígado de los animales sintetiza azúcares.
1852	Frakland propone la noción de la valencia y asigna la tetravalencia al carbono.
1854-64	Pasteur demuestra que la fermentación se debe a los microorganismos, e introduce los términos de «aerobiosis» y «anaerobiosis».
1857	Köelliker descubre las mitocondrias musculares.
1858	Kletzinsky utiliza por primera vez el término «bioquímica» en el título de su libro <i>Compendium der Biochemie</i> publicado en Viena.
1859	Virchow acuña el término de «patología celular».
1859	Darwin publica <i>El origen de las especies</i> para plasmar de forma resumida sus ideas acerca de la evolución por selección natural.
1862	Sachs comprueba que el almidón es un producto de la fotosíntesis.
1864	Hoppe-Seyler cristaliza por primera vez una proteína, la <i>hemoglobina</i> .
1866	Mendel publica sus experimentos relativos a la segregación independiente de los caracteres hereditarios.
1869	Meischer describe la presencia de un compuesto ácido en el núcleo celular, la «nucleína».
1871	Hoppe-Seyler descubre la <i>invertasa</i> , capaz de transformar sacarosa en glucosa y fructosa.
1872	Pfluger comprueba que no sólo la sangre y los pulmones consumen oxígeno, sino todos los tejidos animales.
1876	Hertwig postula que la «sustancia genética» de los progenitores se transmite en la fecundación.
1877	Kühne propone el término de «enzima» y consigue aislar la <i>tripsina</i> del jugo pancreático.
1879	Flemming postula la fusión de los gametos durante la fecundación y la separación posterior del zigoto en dos células.
1881	Zacharias demuestra que los cromosomas contienen la «nucleína» descubierta por Meischer.
1882	Kossel descubre que la nucleína contiene guanina, hipoxantina y adenina. A partir de eritrocitos de ganso, posteriormente aísla un material de tipo peptona al que denomina «histona».
1886	MacMunn descubre las «histohematinas», que más tarde se denominarían citocromos.
1889	Kiliani establece la fórmula estructural de la glucosa.
1889	Ramón y Cajal demuestra que la neurona es la unidad básica del sistema nervioso. En la imagen de la derecha, Santiago Ramón y Cajal con los materiales de laboratorio de la época.
1890	Altmann purifica ADN libre de proteínas, acuña el término de «ácido nucleico» y, además, describe técnicas de tinción de mitocondrias.
	Neumeister afirma que el triptófano es el compuesto indólico de las proteínas.
1893	Ostwald demuestra que las enzimas son catalizadores.
1894	Fischer demuestra la especificidad de las enzimas y postula la teoría de la «llave-cerradura».
1896	Alfred Nobel dona su fortuna para crear los premios que llevan su nombre, que se empiezan a conceder en 1901.
1897	Bertrand idea el término «coenzima» y descubre la <i>lacasa</i> y <i>tirosinasa</i> , las primeras enzimas implicadas en una vía biosintética hasta ese momento.
1898	Büchner descubre que extractos de levaduras prensadas exentas de células provocan la fermentación alcohólica. H-Ardieta publica el primer libro de Bioquímica en España: <i>Química Biológica aplicada a la higiene y a la patología humanas</i> .



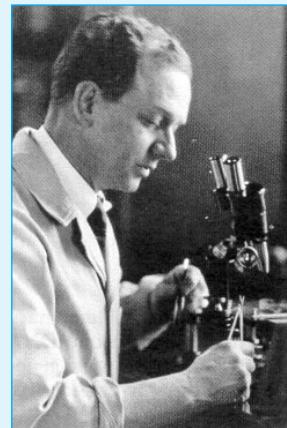
1.3.2 Comienzos del siglo xx: desarrollo de la bioquímica

La Bioquímica inicia su andadura como ciencia independiente a comienzos del siglo xx, ampliando los contenidos de la Química fisiológica del momento a campos no incluidos dentro de la Fisiología y la Patología. Su evolución estuvo asociada a una andadura paralela de lo que conocemos como Bioquímica estructural y como Bioquímica dinámica, gracias

al desarrollo de una parte importante de esta área: la enzimología. Durante la primera mitad del siglo xx y, en parte, debido a la sistematización de los métodos de extracción y manipulación de las muestras biológicas, así como a los avances en las técnicas científicas, comenzó el esclarecimiento de las principales vías metabólicas y las estructuras de muchos metabolitos. Al acabar este período de expansión, se abrió paso a la determinación de la secuencia de macromoléculas, como las proteínas y los ácidos nucleicos (Tabla 1-2).

Tabla 1-2. Desarrollo de la Bioquímica

1900	Correns, de Vries y Tschermark redescubren las leyes de Mendel.
1901-04	Takamine, Aldrich y Abel aíslan por primera vez una hormona, la <i>adrenalina</i> , y Stoltz consigue sintetizarla.
1902	Fischer y Hofmeister demuestran que las proteínas son polipéptidos.
	Sutton concluye que los genes están localizados en los cromosomas, dando una explicación citológica a las leyes de Mendel.
	Landsteiner postula que existen cuatro tipos de sangre humana, que denomina A, B, AB y O.
	Garrod observa que la alcaptonuria es una enfermedad heredable que sigue las leyes de Mendel.
1903	Neuberg crea la primera Cátedra de Bioquímica en Holanda.
1904	Bohr observa que el CO ₂ disminuye la afinidad de la hemoglobina por el O ₂ .
1905	Harden y Young demuestran que la fermentación alcohólica requiere la presencia de fosfato. Concentran una coenzima, posteriormente identificada como NAD.
1906	Ramón y Cajal recibe el Premio Nobel por su trabajo sobre la estructura del sistema nervioso.
1907	Fletcher y Hopkins demuestran que durante la contracción muscular anaerobia se forma ácido láctico a partir de glucosa.
1908	Henderson desarrolla la ecuación aplicable a las soluciones reguladoras, conocida como ecuación de Henderson-Hasselbach.
1909	Sörensen muestra el efecto del pH sobre la actividad enzimática.
	Johansen introduce el término <i>gen</i> para designar las unidades de la herencia con carácter transmisible.
1910	Kossel recibe el Premio Nobel por el estudio sobre la <i>Química de las células</i> .
1911	Funk aísla cristales de vitamina B ₁ y acuña el término de «vitamina».
	Morgan estudia las mutaciones genéticas, los rasgos ligados al sexo y la función de los cromosomas.
	Rous es el primero en establecer de manera fundamentada una relación entre virus y cáncer (fotografía de la derecha).
1912	Neuberg propone la ruta metabólica para la fermentación láctica.
	Batelli y Stern descubren las <i>deshidrogenasas</i> .
	Warburg postula la existencia de una enzima activadora del oxígeno en la respiración, inhibida por cianuro y que necesita hierro.
1913	Michaelis y Menten desarrollan su teoría cinética para las reacciones enzimáticas monosustrato.
	Willstätter y Stolz aíslan y estudian la clorofila.
1914	Kendall aísla la tiroxina.
1916	Abderhalden sintetiza un péptido de 19 aminoácidos, récord de longitud que permaneció durante 30 años.
1917	McCollum obtiene vitaminas liposolubles de la yema del huevo y demuestra que la xeroftalmia de las ratas es debida a carencia de vitamina A.
1921	Hopkins aísla y caracteriza el glutatión.
1922	Ruzicka reconoce al isopreno como el sillar de muchos compuestos naturales.
	Warburg y Negelein llevan a cabo las primeras mediciones de la eficiencia cuántica de la fotosíntesis.
	McCollum aísla del aceite de hígado de bacalao la vitamina D y demuestra que la falta de vitamina D es la causa del raquitismo.



(Continúa en la página siguiente)

1925	Briggs y Haldane aportan importantes modificaciones a la teoría de cinética enzimática.
1925-30	Levine deduce la estructura de los mononucleótidos y demuestra su condición de sillas estructurales de los ácidos nucleicos.
	Svedberg inventa la ultracentrífuga para determinar la velocidad de sedimentación de las proteínas y calcular masas moleculares. Recibe el Premio Nobel en 1926.
1926	Sumner cristaliza por primera vez una enzima, la <i>ureasa</i> , demostrando que es una proteína.
	Jansen y Donath aíslan la vitamina B ₁ (<i>tiamina</i>) de la cáscara de arroz.
1927-28	Muller y Stadler demuestran el carácter mutagénico de los rayos X sobre los genes.
	Windaus descubre que el ergosterol es el precursor de la vitamina D.
	Euler aísla el <i>caroteno</i> , demostrando su actividad vitamínica A.
1928	Griffith demuestra el proceso de transferencia de ácidos nucleicos a las bacterias (transformación bacteriana).
	Szent-Györgyi y, más tarde, Waugh y King aíslan el ácido ascórbico.
	Warburg deduce la naturaleza ferroporfirínica del fermento respiratorio.
1929	Fiske y Subbarow aíslan ATP y fosfocreatina de extractos musculares.
1930	Lundsgaard demuestra que los músculos pueden contraerse sin producir ácido láctico.
	Landsteiner recibe el Premio Nobel de Medicina y Fisiología por descubrir y tipificar los grupos sanguíneos humanos.
1930-33	Northrop aísla la <i>pepsina</i> y la <i>tripsina</i> cristalizadas, demostrando su naturaleza proteica.
1930-35	Edsall y von Murralt aíslan la <i>miosina</i> del músculo.
1931	Engelhardt descubre que la fosforilación va acoplada a la respiración.
	Warburg recibe el Premio Nobel por su estudio sobre la respiración celular.
1932	Lohmann descubre la relación ATP-fosfocreatina.
	Se detalla la estructura anular del colesterol y los ácidos biliares, que sirven de punto de partida para determinar la estructura de las hormonas esteroideas.
1933	Keilin aísla el citocromo c y reconstituye el transporte electrónico en preparados particulados de corazón.
	Krebs y Henseleit descubren el ciclo de la urea.
	Emden y Meyerhof identifican varios productos intermedios de la glicólisis y la fermentación láctica.
	Morgan recibe el Premio Nobel de Medicina y Fisiología por su contribución sobre la función de los cromosomas como portadores de la herencia.
1934	Fölling describe la fenilcetonuria, una enfermedad congénita del metabolismo de aminoácidos.
	Bernal y Crowfoot realizan el primer estudio de una proteína, la <i>pepsina</i> , mediante difracción de rayos X.
1935	Williams y colaboradores establecen la estructura de la vitamina B ₁ .
	Cumming Rose descubre el último de los aminoácidos esenciales, la <i>treonina</i> .
	Schoenheimer y Rittenberg utilizan por primera vez isótopos como trazadores para el estudio del metabolismo de los glúcidos y lípidos.
	Stanley cristaliza por primera vez un virus, el del mosaico del tabaco.
	Szent-Györgyi demuestra el efecto catalítico de algunos ácidos dicarboxílicos en la respiración.
1936	Evans y Doisy aíslan la vitamina E y determinan la estructura de la vitamina K, respectivamente.
1937	Krebs postula el ciclo del ácido cítrico.
	Lohman y Schuster demuestran que la tiamina es un componente de la enzima <i>piruvato carboxilasa</i> .
	Los Cori establecen la secuencia completa de reacciones de la vía glicolítica.
	Waldestrom describe la macroglobulinemia y la primera variedad de porfiria, la cutánea tardía.
1937-38	Warburg observa cómo la formación de ATP en la glicólisis va acoplada con la deshidrogenación de gliceraldehído-3-fosfato.
1937-41	Kalckar y Belitser realizan de forma independiente los primeros estudios cuantitativos sobre la fosforilación oxidativa.
1938	Braunstein y Kitzmann descubren las reacciones de transaminación.
	Caspersson, Schultz y Behrens demuestran que existen ácidos nucleicos de tipo ribopentosa en el citosol celular.
1939-41	Lipmann postula el papel central del ATP como moneda de cambio de energía.
1939-42	Engelhardt y Lyubimova descubren la actividad <i>ATPasa</i> de la miosina.
1939-46	Szent-Györgyi descubre la actina y la actomiosina.

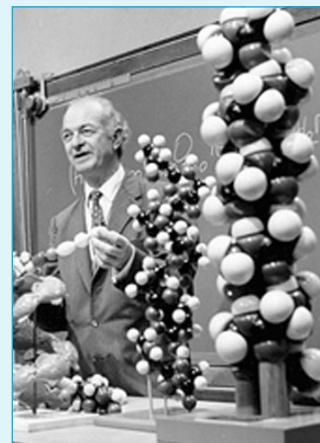
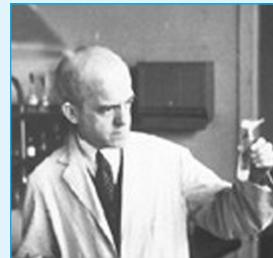
1.3.3 La bioquímica alcanza su madurez

Durante el segundo tercio del siglo XX, el avance experimentado por la bioquímica fue espectacular. Utilizando los poderosos métodos recién descubiertos, ultracentrífuga, microscopio electrónico, espectrofotómetros, polarímetros y los isótopos radiactivos, se detallaron las vías anabólicas y catabólicas, gracias al

descubrimiento de un sinnúmero de proteínas y enzimas y se localizaron estas vías en los distintos orgánulos celulares. Además, el descubrimiento de receptores hormonales, neurotransmisores, bombas y canales iónicos permitió esbozar y, en algunos casos, delinear las vías de señalización celular. Estos adelantos permitieron sentar las bases para la profundización en el conocimiento del crecimiento normal y patológico (Tabla 1-3).

Tabla 1-3. La Bioquímica alcanza su madurez

1941	Beadle y Tatum postulan su teoría sobre <i>un gen-una enzima</i> .
1941-44	Martin y Synge desarrollan la cromatografía de reparto para aplicarla al análisis de aminoácidos.
1942	Bloch y Rittenberg descubren que el acetato es el precursor del colesterol.
1943	Brachet identifica gránulos de ribonucleoproteínas como promotores de la síntesis proteica. Chance aplica, por primera vez, métodos espectrofotométricos sensibles para el estudio de las interacciones enzima-sustrato. Green y Cori cristalizan la <i>fosforilasa muscular</i> . Ochoa demuestra el acoplamiento entre la fosforilación asociada a la generación de ATP y la cadena de transporte electrónico. Hevesy recibe el Premio Nobel por sus estudios sobre la aplicación de los isótopos radiactivos a las reacciones metabólicas.
1943-47	Astbury obtiene el primer patrón de difracción de rayos X de ADN. Avery, MacLeod y McCarty muestran que el ADN causa transformaciones patogénicas en cepas bacterianas normales. En la fotografía de la derecha, Avery en su laboratorio. Leloir y Muñoz demuestran la oxidación de ácidos grasos en sistemas acelulares. Lehninger demuestra el requerimiento de ATP y la estequiometría de la oxidación de ácidos grasos.
1945	Brand describe por primera vez el análisis completo de aminoácidos de una proteína, la <i>β-lactoglobulina</i> , utilizando métodos químicos y microbiológicos.
1946	Takahara identifica un trastorno congénito del metabolismo, la acatalasemia o deficiencia de <i>catalasa</i> .
1947-50	Muller recibe el Premio Nobel por sus estudios de difracción de rayos X. Lipmann y Kaplan aislan y caracterizan la coenzima A.
1948	Leloir y colaboradores descubren el papel de los nucleótidos uridínicos en la biosíntesis de glucidos. Hogeboom, Schneider y Palade perfeccionan el método de centrifugación diferencial para el fraccionamiento subcelular.
1948-50	Calvin y Benson descubren que el ácido fosfoglicérico es un intermediario de la fijación fotosintética del CO ₂ . Kennedy y Lehninger descubren que el ciclo del ácido cítrico, la fosforilación oxidativa y la oxidación de los ácidos grasos transcurren en las mitocondrias.
1949-50	Barr y Bertram descubren la cromatina sexual en células de animales hembras. Sanger y Edman desarrollan dos métodos químicos para la identificación de residuos N-terminales de proteínas y péptidos, sentando las bases para su secuenciación.
1950	Pauling y Corey proponen la estructura de la hélice α para las α-queratinas y descubren la base molecular de la anemia falciforme. En la fotografía de la derecha, Linus Pauling con su modelo estructural de la hélice α polipeptídica. McClintock demuestra que los genes pueden cambiar de lugar en el cromosoma. Chargaff establece las reglas de la equivalencia de bases en el ADN. Hers estudia algunas enfermedades lisosomales.
1950-53	



1950-65	Se elucida la mayoría de las etapas de las vías enzimáticas de la biosíntesis y degradación de aminoácidos, purinas, pirimidinas, ácidos grasos, lípidos, terpenos y glúcidos complejos.
1951	<p>Franklin y Wilkins dan los primeros datos precisos sobre la estructura del ADN. En la fotografía de la derecha, Rosalind Franklin en el laboratorio de Maurice Wilkins, en la Universidad de Cambridge.</p> <p>Lynen postula el papel de la coenzima A en la oxidación de los ácidos grasos.</p> <p>Inmediatamente después, Lynen, Green y Ochoa, separadamente, aislan las enzimas implicadas en la oxidación de los ácidos grasos.</p>



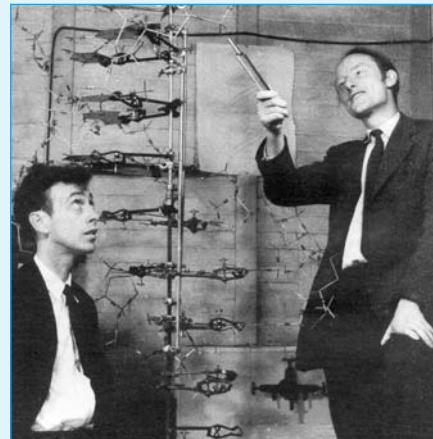
1.3.4 Nacimiento y desarrollo de la biología molecular

La Biología Molecular ha adquirido, sin lugar a duda, un peso específico dentro de la Bioquímica. Tras los primeros datos acerca de la doble hélice del ADN, la tecnología del ADN recombinante ha experimentado una tremenda evolu-

ción. Los avances espectaculares de la ingeniería genética y los nuevos métodos de visualización de las estructuras moleculares complejas, que aparecieron en este último cuarto de siglo, han retroalimentado a la química de las proteínas y a la bioquímica estructural y funcional. Juntas, se han aliado para desvelar los mecanismos moleculares de los procesos biológicos normales y, por extensión, patológicos (Tabla 1-4).

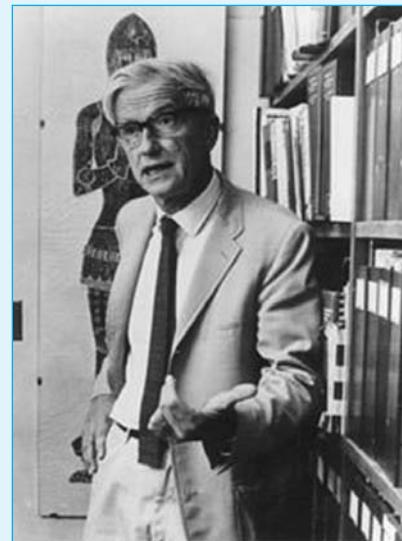
Tabla 1-4. Nacimiento y desarrollo de la Biología Molecular

1952-53	<p>Palade, Porter y Sjostrand perfeccionan el método de fijación de las estructuras intracelulares para microscopía electrónica.</p> <p>Chase y Hershey confirman que en los virus, el ADN es el portador de la información genética.</p>
1952-54	<p>Zamecnik y colaboradores descubren las partículas ribonucleoproteicas, los ribosomas, como el lugar donde se sintetizan las proteínas.</p>
1953	<p>Braggs, Kendrew y Perutz dilucidan, mediante difracción de rayos X, la estructura de la mioglobina y la hemoglobina.</p> <p>Watson y Crick postulan el modelo estructural de la doble hélice del ADN. En la fotografía, los dos investigadores con su modelo estructural del ADN.</p>
1954	<p>Sanger y Thompson terminan la secuenciación de las cadenas A y B de la insulina. Dos años más tarde, Sanger y colaboradores publican las posiciones de los puentes disulfuro.</p> <p>Horecker, Dickens y Racker elucidan la ruta del 6-fosfogluconato.</p>
1954-58	<p>Arnon y colaboradores descubren la fosforilación fotosintética.</p> <p>Pauling recibe el Premio Nobel de Química por sus estudios sobre la estructura de α-hélice de las proteínas.</p>
1955	<p>Kennedy describe la vía de síntesis de triacilglicéridos y fosfoacilglicéridos y postula el papel de los nucleótidos de citidina.</p> <p>Ochoa y Grunberg-Manago descubren la polinucleótido fosforilasa.</p> <p>Kornberg descubre la enzima ADN polimerasa (fotografía de la derecha).</p> <p>Levan y Tjio proponen que hay 46 cromosomas humanos.</p>

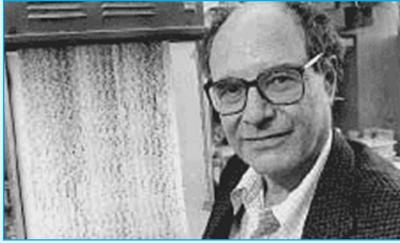
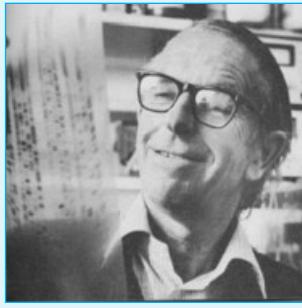


(Continúa en la página siguiente)

1956	Umbarger publica que el producto final de una vía (la <i>isoleucina</i>) inhibe la primera enzima de la ruta de la biosíntesis a partir de treonina.
	Jacob y Monod postulan la existencia de genes reguladores y estructurales.
1956-58	Ingram demuestra que la diferencia de un solo aminoácido en la cadena de la hemoglobina altera su función.
	Anfinsen y White postulan que la conformación tridimensional de las proteínas viene dictada por su secuencia de aminoácidos.
1957	Vogel y Magasanik describen la represión génica de la síntesis de las proteínas.
	Sutherland descubre el AMPc.
	Hoagland, Zamecnik y Stephenson aislan el ARN de transferencia.
	Skou descubre la <i>ATPasa Na⁺/K⁺</i> y postula su papel en el transporte transmembrana de iones.
1958	Crick enuncia el dogma central de la genética molecular.
	Messelson y Stahl proporcionan la confirmación experimental del modelo de replicación semiconservativa del ADN de Watson y Crick. En la fotografía, Max Delbrück en su lugar de trabajo, hacia 1970.
	Stein, Moore y Spackman describen el analizador automático de aminoácidos.
	Beadle, Tatum y Lederberg reciben el Premio Nobel de Medicina y Fisiología por sus estudios de recombinación génica y organización del material genético en bacterias.
	Sanger recibe el Premio Nobel de Química por su contribución inestimable a la secuenciación de las proteínas.
1958-59	Weiss, Hurwitz y otros descubren la <i>ARN polimerasa</i> dependiente de ADN.
1959	Kornberg y Ochoa reciben el Premio Nobel de Medicina y Fisiología por sus trabajos pioneros de síntesis de polinucleótidos de ADN y ARN.
1960	Gautier, Lejeune y Turpin postulan que el mongolismo está causado por un cromosoma en exceso.
	Hirs, Moore y Stein determinan la secuencia de la <i>ribonucleasa</i> .
	Anfinsen hace importantes aportaciones acerca del plegamiento de las proteínas.
	Kendrew publica el análisis de rayos X de alta resolución de la estructura de la mioglobina del esperma de ballena.
1961	Wyman, Monod y Changeux proponen una teoría para explicar el comportamiento de las proteínas alóstéricas.
	Mitchell postula la teoría quimiosmótica.
	Brenner, Jacob y Monod plantean la hipótesis del modelo operón y proponen la función del ARNm.
	Dintzis demuestra que la traducción transcurre en sentido 5' → 3' del ARNm y desde el amino terminal al carboxilo terminal de la proteína.
	Guthrie establece un método para el diagnóstico neonatal de la fenilcetonuria.
1961-65	Los grupos de Nirenberg, Khorana y Ochoa identifican el código genético.
1962	Racker y colaboradores aislan la fracción F1 de la <i>ATPasa</i> .
	Crick, Watson y Wilkins reciben el Premio Nobel de Medicina y Fisiología por la dilucidación de la estructura molecular del ADN.
	Brenner demuestra que el aminoacil-ARNt se incorpora en la síntesis proteica, según la especificidad de su anticodón.
1963	Arber demuestra la existencia de <i>endonucleasas de restricción</i> .
	Se funda en España la Sociedad Española de Bioquímica.
1964	Cairns demuestra la síntesis simultánea de ambas hebras durante la replicación del ADN.
	Roger consigue por primera vez implantar un gen en una célula heteróloga.
1965	Setlow y otros descubren el mecanismo de reparación de lesiones del ADN.
	Holley determina la primera secuencia polinucleotídica de una molécula natural, el ARNt ^{Ala} , trabajo que le merece el Premio Nobel en 1968.
	Benzer elabora el primer mapa detallado de un gen.
	Jacob, Lwoof y Monod reciben el Premio Nobel de Medicina y Fisiología por sus trabajos de regulación genética de la síntesis de enzimas en bacterias.



1966	Crick propone la hipótesis del balanceo de la base 5' del anticodón. Rous recibe el Premio Nobel de Medicina y Fisiología por sus hallazgos relativos a la inducción viral del cáncer en gallinas.
1967	Blake publica la estructura tridimensional de la <i>lisozima</i> . Se inicia en España la investigación en Biología Molecular, gracias al empuje de investigadores como García-Bellido, Salas, Vázquez y Viñuela y desde el extranjero, de Ayala, Grisolía y Ochoa .
1968	Holley, Khorana y Nirenberg reciben el Premio Nobel de Medicina y Fisiología en reconocimiento a su aportación al descifrado del código genético.
1969	Smith y Wilcox aislan la primera enzima de restricción. Delbrück, Hershey y Luria reciben el Nobel de Medicina y Fisiología por el estudio de la replicación y estructura genética de los bacteriófagos.
1970	Huebner y Todaro postulan la hipótesis del oncogén como causa del cáncer producido por virus ARN. Nathans realiza el primer mapa de restricción del fago SV40.
1971	Johnson y Rao sugieren los puntos de control del ciclo celular (G1/S y G2/M). Baltimore y Temin demuestran que los virus ARN transfieren información genética a su huésped.
1972	 Blobel y Sabatini proponen la hipótesis de la señal para el tráfico de las proteínas. Sutherland recibe el Premio Nobel por sus estudios sobre el mecanismo de acción de las hormonas. Darnell y otros descubren la existencia de la cola poli A en el extremo 3' de los ARNm de eucariotas. Edelman y Porter reciben el Premio Nobel de Medicina y Fisiología por sus estudios sobre la estructura de las inmunoglobulinas.
1973	Anfinsen recibe el Premio Nobel de Química por sus aportaciones sobre las relaciones entre la estructura primaria y terciaria de las proteínas.
1974	Berg Cohen y Boyer obtienen las primeras moléculas de ADN recombinante. Singer y Nicholson proponen el modelo del mosaico fluido de biomembranas.
1975	Kerr, Wyllie y Curie descubren la apoptosis. Se clona por primera vez un gen de rana en <i>E. coli</i> . Kornberg demuestra que el nucleosoma es la subunidad básica de empaquetamiento del ADN.
1976	Claude, de Duve y Palade reciben el Premio Nobel por sus aportaciones al conocimiento de la estructura y organización funcional de la célula. Southern desarrolla la técnica que lleva su nombre de hibridación de ácidos nucleicos. O'Farrell desarrolla el sistema bidimensional de análisis de proteínas; y Hogness y Grunstein el método de hibridación de colonias.
1977	Sanger propone el primer método de secuenciación del ADN. Poco después, Maxam y Gilbert proponen otra aproximación para la secuenciación del ADN. Dozy, Golbus, Kan y Mitchell hacen el primer diagnóstico prenatal de una enfermedad genética, la α-talasemia. Baltimore, Dulbecco y Temin reciben el Premio Nobel de Medicina y Fisiología por sus trabajos de genética molecular de los virus tumorales.
1979	Blumberg y Gajdusek reciben el Premio Nobel de Medicina y Fisiología como reconocimiento a los nuevos mecanismos sobre el origen y diseminación de enfermedades infecciosas. Maniatis y otros obtienen ADNc a partir de ARNm de la β-globina.
1980	Roberts y Sharp descubren los intrones en los genes eucariotas. Flawell y Jeffreys describen las secuencias características de los intrones. Arber, Nathans y Smith son galardonados con el Premio Nobel de Medicina y Fisiología por el descubrimiento de las <i>endonucleasas de restricción</i> . Cooper, Weinberg y Wigler descubren los oncogenes. White y Wyman identifican los polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP) de regiones hipervariables del genoma. Lane y Levine descubren la proteína p53, producto de un gen oncosupresor. Berg es galardonado también con el Premio Nobel por sus aportaciones bioquímicas al estudio del ADN recombinante. Gallo demuestra la estrecha relación que existe entre determinados virus y algunos tipos de cáncer humanos. Gordon, Ruddle y otros obtienen los primeros ratones transgénicos.

	Gilbert y Sanger reciben el Premio Nobel de Química por sus métodos de secuenciación del ADN. (A la derecha Walter Gilbert; abajo Fred Sanger.)	
1982	La empresa privada comercializa la insulina recombinante humana. Laskey localiza la primera señal que dirige las proteínas al núcleo celular. Klug recibe el Premio Nobel de Química por sus trabajos de análisis por microscopía electrónica de los complejos proteína-ácido nucleico. Barbacid, Notario y Santos demuestran la relación entre oncogenes humanos y el cáncer.	
1983	Mullis ingenia la técnica de PCR. Gusella descubre un marcador genético para la enfermedad de Huntington. McClintock recibe el Premio Nobel por su descubrimiento de los transposones. Cech y Altman descubren el ARN catalítico.	

1.3.5 De la era genómica a nuestros días

Durante la última década del siglo XX se propone y completa el «Proyecto Genoma Humano (PGH)», que, a grandes rasgos, consistía en la obtención de los datos relativos al mapa genético y físico completo del genoma humano, así como de la primera versión de la secuencia completa del mismo. La consecución parece que va a conducir a un desa-

rrollo de proporciones asombrosas, en cuanto al conocimiento de los procesos fisiológicos complejos y de los trastornos multigénicos. De hecho, los descubrimientos relacionados con la base molecular de las enfermedades humanas se están comunicando a una velocidad sin precedentes, abriendo la ventana de par en par a algunos síndromes complejos cuyas bases moleculares eran hasta hoy desconocidas (Tabla 1-5).

Tabla 1-5. De la era genómica a nuestros días

1985	Jeffreys desarrolla el método de la huella genética para la identificación de individuos, basado en las investigaciones de White y Wyman (fotografía de la derecha). Se automatiza la secuenciación del ADN. Brown y Goldstein reciben el Premio Nobel de Medicina y Fisiología por sus descubrimientos sobre la regulación del metabolismo del colesterol.	
1986	Roderick acuña el término de <i>Genómica</i> : ciencia y métodos para localizar genes y hallar su secuencia. Se descubre un aminoácido no estándar, la <i>selenocisteína</i> . Cohen y Levi-Montalcini reciben el Premio Nobel de Medicina y Fisiología por sus descubrimientos relativos a los factores de crecimiento. Rechsteiner descubre el proteasoma. McKusick recopila unas 4000 alteraciones genéticas hereditarias distintas.	
1987	Se identifica por clonación posicional el primer gen responsable de una enfermedad genética humana. Clarck y sus colaboradores obtienen una oveja transgénica que produce una proteína humana en la leche. Se descubre que la metilación del ADN en eucariotas es un mecanismo para silenciar la transcripción. Se desarrollan los cromosomas artificiales de levaduras.	

(Continúa en la página siguiente)

	Tonegawa recibe el Premio Nobel de Medicina y Fisiología por sus investigaciones sobre las bases genéticas de la diversidad de los anticuerpos.
	Cech y Altman reciben el Premio Nobel de Química por sus estudios sobre el papel de las ribozimas en el proceso de corte y empalme de los ARN.
	Bishop y Varmus son galardonados con el Premio Nobel por sus descubrimientos sobre retrovirus y el papel de los oncogenes en el cáncer.
	Se descubren los microsatélites.
1990	Venter desarrolla una estrategia para localizar las EST (etiquetas de secuencias expresadas). Se propone el inicio del Proyecto Genoma Humano (PGH).
1991	King asocia un gen del cromosoma 17 con la aparición de cáncer de mama familiar.
1992	Fischer y Krebs reciben el Premio Nobel por sus aportaciones sobre la fosforilación reversible de proteínas, como mecanismo biológico de regulación. Se obtienen los primeros mapas físicos del cromosoma 21 y del cromosoma Y, gracias a los trabajos de Cohen y Page .
	Noller demuestra que la actividad <i>peptidyltransferasa</i> está localizada en un ARNr del ribosoma.
1993	Sharp y Roberts son galardonados con el Premio Nobel de Medicina y Fisiología por sus observaciones sobre el procesamiento del ARN de genes discontinuos.
	Mullis recibe el Premio Nobel de Química por el desarrollo de la PCR.
1994	Smith lo recibe también el mismo año por sus métodos de mutagénesis dirigida con oligonucleótidos.
	Gilman y Rodbell reciben el Nobel de Medicina y Fisiología por sus descubrimientos sobre proteínas G y su papel en la transducción de señales.
1995	Se presenta el primer mapa genético humano detallado. Ese año, se secuencian los genomas completos de la bacteria más pequeña (<i>Mycoplasma genitalium</i>) y de <i>Haemophilus influenzae</i> .
	Megan y Morag obtienen corderos clónicos. Se obtiene el primer mapa físico completo del genoma humano. Se acuña el término de «proteoma».
1996	Nace Dolly, la primera oveja clónica obtenida de núcleos de células adultas. Se obtiene la secuencia del genoma completo de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . Se comercializa un biochip para analizar las mutaciones del virus del SIDA. Se completa el mapa genético del ratón y se secuencia el genoma de arqueas y levaduras. Comienza la secuenciación a gran escala del ADN humano.
1997	Prusiner recibe el Premio Nobel de Medicina y Fisiología por el descubrimiento de los priones, un nuevo agente biológico de infección. Se obtiene la secuencia completa del genoma de <i>E. coli</i> .
1998	Se completa la secuencia del genoma del gusano <i>Caenorhabditis elegans</i> .
1999	 Blobel recibe el Premio Nobel de Medicina y Fisiología por su hipótesis de la señal en el tráfico de las proteínas en la célula.
2000	Se completa la secuencia del genoma de <i>Drosophila melanogaster</i> . Se descifra el mapa genético de los cromosomas 5, 16 y 19 humanos. Se secuencia el cromosoma 21. Se presenta un primer borrador de la secuencia completa del genoma humano.
2001	Hartwell, Hunt y Nurse son galardonados con el Premio Nobel de Medicina y Fisiología por sus contribuciones sobre la regulación del ciclo celular.
2002	Chan y Krzycki descubren el aminoácido número 22. Se publica la secuencia del genoma del ratón, del mosquito <i>Anopheles</i> y del <i>Plasmodium falciparum</i> . Se presenta el borrador del genoma del arroz.
	Brenner, Horvitz y Sulston reciben el Premio Nobel de Medicina por sus descubrimientos sobre la regulación genética del desarrollo.
2003	Se celebra el cincuentenario del descubrimiento de la estructura de la doble hélice.
	Lauterbur y Mansfield reciben el Premio Nobel de Medicina en reconocimiento a su participación en el desarrollo de los equipos de imágenes de resonancia magnética.
2004	Se publica el genoma completo del perro.

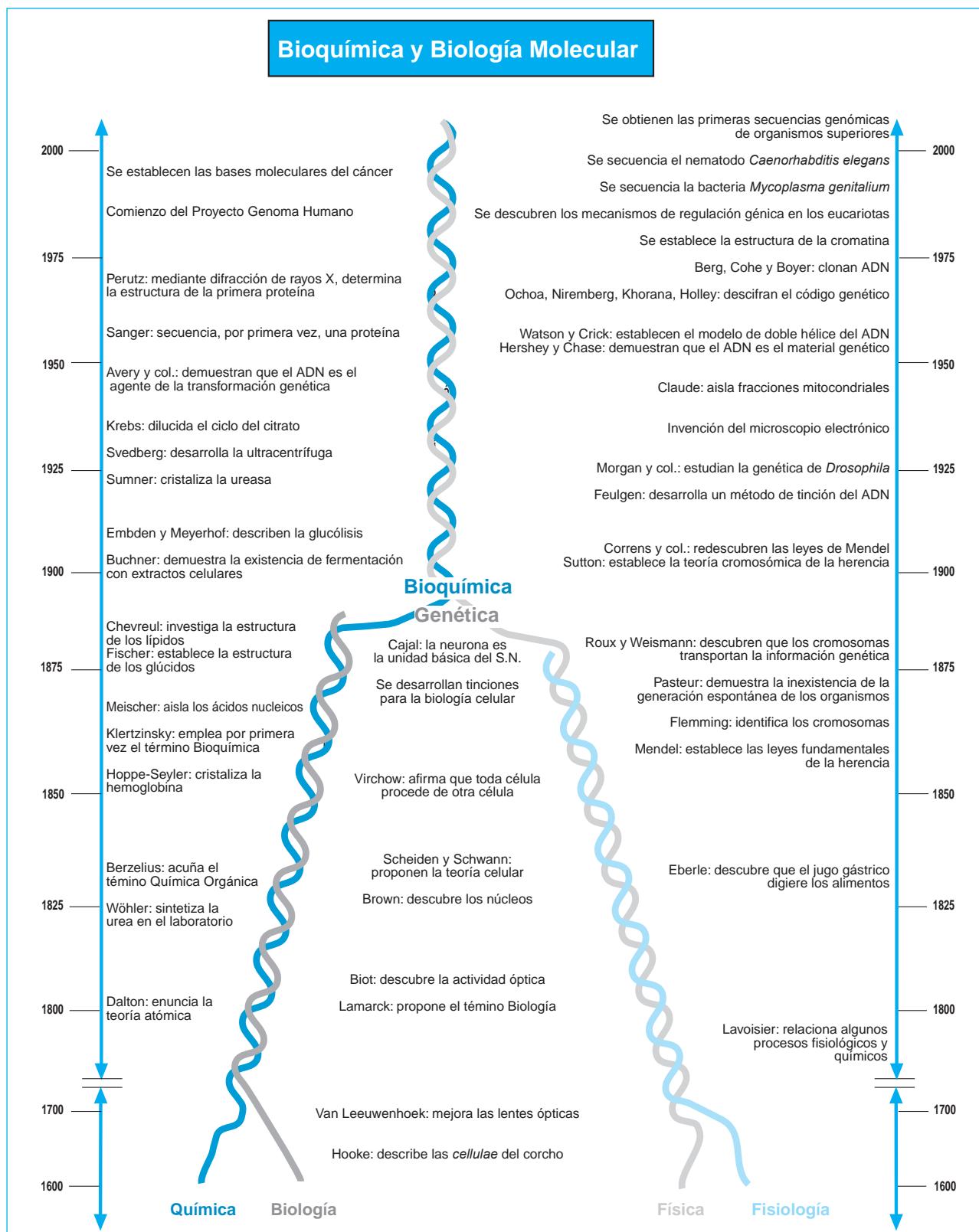


Figura 1-1. La Bioquímica y Biología Molecular, una disciplina joven, se nutre y desarrolla con aportaciones realizadas desde diversas perspectivas, físicas, químicas, biológicas, fisiológicas y genéticas.

RESUMEN

- La Bioquímica es una ciencia que surgió a finales del siglo XIX, derivada de la Química, la Biología y la Medicina, para estudiar a nivel molecular la estructura y función de los componentes celulares.
- A finales del siglo XIX se realizan las primeras síntesis de compuestos orgánicos sencillos, otros se extraen de fuentes naturales y se purifican las primeras proteínas. Durante el comienzo del siglo XX se formularon las teorías celulares, de la herencia y la evolución.
- A lo largo del primer tercio del siglo XX, gracias al avance de los métodos de extracción y purificación, así como a la sistematización de los procedimientos, la Bioquímica estructural y la dinámica experimentan un desarrollo paralelo, apoyado en gran medida en los adelantos de la enzimología.
- Durante el segundo tercio del siglo XX, contando con la ayuda de la tecnología científica recién desarrollada, se consigue detallar las vías anabólicas y catabólicas, gracias al descubrimiento de un sinúmero de proteínas y enzimas, y se localizan estas vías en los distintos orgánulos celulares.
- La Biología Molecular surge a partir del descubrimiento de la estructura de la doble hélice del ADN a mitad del siglo XX. Gracias a ella, se dilucidaron cuáles eran las estructuras celulares encargadas de la transmisión de la información genética entre las distintas generaciones, así como cuáles eran los mecanismos de almacenamiento, transmisión y expresión de la misma. Además, se inicia el período de la ingeniería genética, tras la obtención de la primera molécula de ADN recombinante, en la década de los setenta.
- Desde la última década del siglo XX hasta nuestros días, se han secuenciado los genomas de varios organismos, desde bacterias hasta el ser humano. Paralelamente, se han obtenido diversos animales transgénicos, para su uso como herramienta científica, pero también con aplicación directa en campos como la agroalimentación y la medicina.
- En la transición del milenio, ganan auge disciplinas como la proteómica, ciencia y métodos encargados del estudio de todas las proteínas de las diferentes células y especies, así como las interacciones que establecen entre ellas y sus estructuras tridimensionales. Otras disciplinas asociadas, relacionadas con la exploración a gran escala de genes y proteínas mediante el uso de métodos robotizados, están comenzando su andadura.
- Actualmente, la Bioquímica se considera dividida en tres grandes apartados, según el objeto de estudio: Bioquímica estructural, Bioquímica metabólica y Biología molecular.

BIBLIOGRAFÍA

- Ardieta H: *Química Biológica aplicada a la higiene y a la patología humanas*. Barcelona, Soler M, 1898.
- Lozano JA: *Perspectivas de la Genética Bioquímica*. Publicaciones de la Universidad de Murcia, 1975.
- Manchester KL: Biochemistry comes of age: a century of endeavour. *Endeavour* 2000; 24: 22-27.
- Pace NR: The universal nature of biochemistry. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 98: 805-808.
- Santesmases MJ y Muñoz E: Hacia la institucionalización de la bioquímica en España: origen y fundación de la Sociedad Española de Bioquímica. *LLULL* 1993; 16: 549-585.
- Sols A: Hacia una Patología Molecular. *Boletín de Educación Bioquímica (Méjico)* 1982; 1: 9-15.
- Watson JD: *La doble hélice*, Barcelona, Plaza y Janés, 1978.

ARGUMENTO Y ACTORES: VIDA, ÁTOMOS Y MOLÉCULAS

2

Uno de los atributos que caracterizan a la materia viva, es decir, a la vida, es la capacidad de constante renovación de una estructura muy bien ordenada. Los organismos vivos poseen un perfecto orden molecular muy complejo, que se encuentra en continua creación y que es transmitido a sus descendientes. Estos procesos de creación y transmisión de orden se realizan en un entorno caótico o muy poco ordenado. La creación de orden y complejidad en la materia debe ser compensada con un aporte continuo de energía, con lo que no se contraviene el segundo principio de la Termodinámica.

Otro de los atributos fundamentales de la materia viva es su capacidad de autorreproducción. La información que describe la estructura de un organismo se transfiere de una generación a la siguiente y, de esta forma, la vida puede perpetuarse.

Para describir y estudiar este fascinante fenómeno de la vida, se han de considerar las reacciones y transformaciones químicas que la hacen posible. En estos procesos del desarrollo del argumento de la vida, los actores básicos son los átomos y las moléculas que forman parte de los seres vivos y constituyen los denominados *bioelementos* y *biomoléculas*.

2.1 BIOELEMENTOS

Debido al origen evolutivo común de la materia viva, su química es similar en toda la escala filogenética. En la composición de los seres vivos aparecen una veintena de elementos químicos que son esenciales para el desarrollo de la vida. A estos elementos químicos que constituyen los seres vivos se les denomina bioelementos. También reciben el nombre de elementos biogénicos o biogenésicos. Se pueden clasificar, según su abundancia, en tres grandes grupos:

1. *Bioelementos primarios*: H, O, C, N. Son los más abundantes. Representan un 99.3% del total de átomos del cuerpo humano. Con diferencia, el hidrógeno es el más importante, junto con el oxígeno, ya que ambos forman parte de la biomolécula más abundante de los organismos, el agua.

2. *Bioelementos secundarios*: Ca, P, K, S, Na, Cl, Mg, Fe. Constituyen prácticamente el 0.7% del total de átomos del cuerpo humano.

3. *Oligoelementos o bioelementos traza*: Mn, I, Cu, Co, Cr, Zn, F, Mo, Se y otros. Aunque aparecen sólo en trazas o en cantidades ínfimas, su presencia es esencial para el correcto funcionamiento del organismo. Su ausencia determina la aparición de *enfermedades carenciales*, o síntomas de déficit, que se definirán en el siguiente apartado.

Otro criterio de clasificación de los bioelementos es la función que desempeñan en el organismo. Así, se pueden establecer diferentes grupos, con distintas funciones:

1. *Plástica o estructural*: H, O, C, N, P, S. Colaboran en el mantenimiento de la estructura del organismo.
2. *Esquelética*: Ca, Mg, P, F, Si. Confieren rigidez.
3. *Energética*: C, O, H, P. Forman parte de las moléculas energéticas.
4. *Catalítica*: Fe, Mn, I, Cu, Co, Zn, Mo, Se. Forman parte de las enzimas, que catalizan reacciones y procesos bioquímicos.
5. *Osmótica y electrolítica*: Na⁺, K⁺ y Cl⁻, principalmente. Mantienen y regulan los fenómenos osmóticos y de potencial químico y electrónico.

Como la Bioquímica pretende estudiar y explicar la vida desde el punto de vista molecular, el conocimiento de las biomoléculas o moléculas de los seres vivos es un punto de partida necesario, ya que la vida se nos presenta como el resultado de las propiedades e interacciones de tales biomoléculas.

En el origen, el universo estaba formado fundamentalmente por hidrógeno y helio. Durante millones de años se produjeron reacciones termonucleares que condujeron a la aparición de los otros elementos químicos más pesados. Estos elementos se distribuyeron por todo el universo, dando lugar, con el paso del tiempo, a la composición química actual de la materia. Los elementos más abundantes en la actualidad siguen siendo hidrógeno y helio, y a continuación, oxígeno, neón, carbono y nitrógeno.

Hace unos 5000 millones de años, posiblemente, aparecieron sobre la Tierra las primeras formas primitivas de vida. Desde entonces, el proceso evolutivo ha transcurrido hasta alcanzar el grado actual de diversidad y diferenciación, lo

que ha significado un alto grado de adaptación y selección. Es interesante saber que aunque se conocen más de 100 elementos químicos diferentes, en la corteza terrestre son ocho los más abundantes en cuanto a número de átomos, representando más del 98% de los átomos totales (O, Si, Al, Fe, Ca, Na, K, Mg).

Por otra parte, si consideramos la abundancia relativa de los átomos que actualmente constituyen las biomoléculas, en concreto las del ser humano, nos encontramos con que sólo cuatro elementos representan más del 99% de todos los átomos (H, O, C, N). Es un hecho llamativo que ninguno de ellos, excepto el oxígeno, se encuentre entre los ocho elementos más abundantes en la corteza terrestre.

¿Por qué han sido precisamente estos cuatro elementos los que han conformado las biomoléculas? De su pequeño tamaño y de su estructura electrónica, se pueden deducir las siguientes posibilidades:

1. La facilidad de formar enlaces covalentes entre ellos, compartiendo electrones. Estos enlaces son muy estables, ya que su fuerza es inversamente proporcional a la masa de los átomos unidos.
2. La disponibilidad de los átomos de carbono para la formación de esqueletos carbonados tridimensionales (ejemplo del carbono tetraédrico).
3. El que se favorezca la multiplicidad de enlaces (dobles y triples) entre algunos de esos átomos, así como la formación de enlaces que facilitan a su vez la formación de estructuras lineales, ramificadas, cíclicas, heterocíclicas, etcétera.
4. El hecho de que, con muy pocos elementos, se puede dar lugar a una gran variedad de grupos funcionales, que confieren propiedades características a las diferentes biomoléculas.

2.1.1 Enfermedades carenciales

Es lógico que la deficiencia de cualquiera de los bioelementos encuadrados en los grupos primario y secundario, determine alteraciones patológicas importantes en el organismo humano. Un ejemplo típico es el de la anemia producida por carencia o deficiencia de Fe.

Sin embargo, se podría pensar que el déficit de alguno de los oligoelementos no debería representar un problema importante, dada la mínima cantidad de estos oligoelementos que el organismo necesita. Nada más lejos de la realidad, ya que la expresión enfermedad carencial adquiere verdadera importancia en lo que se refiere a estos elementos, debido a la importancia de su función. En la Tabla 2-1 se pueden observar algunas disfunciones producidas por la escasez o ausencia de estos elementos (Recuadro 2-1).

2.2 BIOMOLÉCULAS

Análogamente a lo que ocurre con los bioelementos, las biomoléculas son las moléculas constituyentes de los seres vivos. Atendiendo a su naturaleza química, las biomoléculas se pueden clasificar en dos grandes grupos:

1. *Biomoléculas inorgánicas*: agua (la biomolécula más abundante), gases (oxígeno, dióxido de carbono), sales inorgánicas (aniones, como fosfato y bicarbonato, y cationes, como amonio).
2. *Biomoléculas orgánicas*: glucidos (como glucosa o glucógeno), lípidos (como triglicéridos o colesterol), proteínas (como la hemoglobina o las enzimas), ácidos nucleicos (como ADN [ácido desoxirribonucleico] o ARN [ácido ribonucleico]), metabolitos (como ácido pirúvico o ácido láctico), etcétera.

Tabla 2-1. Oligoelementos y alteraciones carenciales

Cinc	Retraso del crecimiento, diarrea, alopecia, dermatitis, disfunción inmunitaria, espermatogénesis defectuosa.
Cobalto	Anemia, retraso en el crecimiento.
Cobre	Anemia, defectos esqueléticos, desmielinización, degeneración del sistema nervioso, lesiones cardiovasculares, hipopigmentación.
Cromo	Trastornos en la tolerancia a la glucosa, encefalopatías, neuropatías.
Flúor	Caries, alteraciones en la estructura ósea.
Manganeso	Retraso del crecimiento, defectos en la coagulación, dermatitis.
Molibdeno	Síntomas similares al bocio.
Selenio	Miocardiopatías, disfunción muscular.
Yodo	Bocio (Recuadro 2-1).

Recuadro 2-1.

BOCIO

Se denomina bocio al aumento de volumen de la glándula tiroides (tiroidomegalia). La glándula tiroides suele pesar unos 20-30 g, pero en casos de bocio puede llegar a alcanzar hasta 1 kg. De diferentes causas, bocio vascular, enfermedad de Graves, etcétera, la más frecuente es ocasionada por una captación insuficiente del yodo en la dieta. Aunque puede aparecer en cualquier localización, es endémico en las zonas geográficas montañosas (Andes, Himalaya) donde el escaso aporte de yodo tiene su origen en el predominio de determinados cultivos, las propiedades químicas del suelo o la dificultad de las comunicaciones, que impiden diversificar el origen de los alimentos. A este respecto, el Dr. Marañón

señalaba, ya en 1927, que «el bocio es un problema de civilización, y su remedio, caminos». En España, esta enfermedad presentó una alta prevalencia en zonas aisladas y deprimidas económicamente, como Las Hurdes (Extremadura).

Las necesidades diarias de yodo se cifran en 100-150 mg, que se aportan por los alimentos de la dieta. Con carácter preventivo, se pueden suplementar con yodo ciertos alimentos de consumo general, como pan y aceite, pero lo más generalizado es la utilización de sal yodada en la dieta. Además de la escasez de yodo en la alimentación, se han descrito ciertos elementos cuya presencia dificulta la correcta captación del yodo por el tiroides. Son las denominadas sustancias o elementos bociógenos. Entre ellos se encuentran el calcio, el litio, el flúor y el cobalto; asimismo, son

bociógenas las plantas del género *Brassica* (col, coliflor, rábanos, coles de Bruselas) o las nueces.

El bocio está epidemiológicamente asociado con el cretinismo y ciertas formas de sordomudez y de deficiencia mental. Las formas más graves son las que comienzan durante el desarrollo fetal, por lo que el déficit de yodo es peligroso en mujeres en edad fecunda.

En algunas ocasiones, un exceso de yodo puede originar la existencia de un bocio endémico. Es el caso de la isla de Hokkaido, en el archipiélago japonés. Un excesivo consumo de yodo bloquea la liberación de las hormonas tiroideas y la organificación del elemento. En otras situaciones, la administración de ciertos medicamentos (sulfonilureas, ácido paraaminosalicílico, etc.) puede producir bocio (iatrogénico).

Según la especialización de cada tejido, existe una diferente distribución celular cualitativa y cuantitativa de las biomoléculas, aunque, en general, la más abundante es el agua, seguida de las proteínas.

Las biomoléculas de los seres vivos se caracterizan por su no gratuidad, es decir, por poseer siempre una función cuya naturaleza puede ser diversa: estructural, catalítica, de transporte, de defensa, señalizadora, de almacenamiento energético, entre otras. Su gran diversidad interespecie (en el caso de las proteínas y los ácidos nucleicos) se puede lograr a partir de unas pocas unidades estructurales elementales diferentes, o sillares: veinte aminoácidos en las proteínas y cinco nucleótidos en los ácidos nucleicos. Ello contrasta con la gran similitud molecular intraespecie. Las propiedades de las biomoléculas condicionan sus interacciones, lo que, en conjunto, da lugar a las características de los seres vivos: autoensamblaje de las estructuras moleculares (organización), funciones características propias, uso de la energía y autorreplicación.

2.2.1 Enlaces químicos en las biomoléculas

Las fuerzas que mantienen unidos a los átomos para constituir las biomoléculas reciben el nombre de enlaces químicos. Los dos tipos de enlace químico utilizados son el enlace iónico o electrovalente y el enlace covalente.

El *enlace iónico o electrovalente* se establece entre átomos que ceden o aceptan electrones en sus orbitales periféricos

cos para alcanzar el estado de mayor estabilidad electrónica (cumpliendo la ley del octete, es decir, la existencia de ocho electrones en su última capa). Ello determina que los átomos implicados se conviertan en iones de signo contrario por lo que sufren entre sí una atracción mutua de naturaleza electrostática. Ejemplos típicos son los enlaces que se establecen entre los metales alcalinos o alcalinotérreos y los halógenos. Así, en el NaCl, el ion negativo o anión Cl^- se une por enlace iónico con el ion positivo o catión Na^+ .

El *enlace covalente* se establece entre átomos que comparten electrones de sus orbitales periféricos, para alcanzar el estado de mayor estabilidad electrónica. Este tipo de enlace es el más frecuente en las biomoléculas y es más fuerte y resistente que el enlace iónico.

Como se ha mencionado anteriormente, una de las razones que han determinado que H, O, N y C sean los bioelementos primarios y representen más del 99% del total de átomos en el ser humano, es su capacidad para establecer enlaces covalentes. El hidrógeno es capaz de establecer un enlace covalente; el oxígeno puede formar dos; tres, el nitrógeno y cuatro, el carbono. Además, al tratarse de átomos pequeños, la fuerza de los enlaces en los que participan es elevada.

Estos bioelementos pueden establecer, además de enlaces covalentes sencillos, otros enlaces dobles y triples, dependiendo del número de electrones que se comparten en cada enlace. Mención especial merece el átomo de carbono que

debido a su estructura electrónica (hibridación sp^3) y la concomitante disposición tetraédrica de los enlaces, constituye la base estructural tridimensional de los compuestos carbonados y, por tanto, de la gran mayoría de las biomoléculas (Véase la Fig. 5-1).

2.2.2 Grupos funcionales

Los átomos de carbono se enlazan entre sí por enlace covalente, originando cadenas lineales, ramificadas o estructuras circulares. En ellas, los átomos de carbono también establecen enlaces covalentes sencillos con átomos de hidrógeno. A estas moléculas se les conoce con el nombre genérico de hidrocarburos.

A esas estructuras carbonadas se les puede añadir otros átomos o grupos de átomos que les confieren propiedades químicas específicas y que reciben el nombre de *grupos funcionales*. El grupo funcional es el responsable del comportamiento físico y químico característico de cada tipo de biomolécula.

En la Tabla 2-2 se recogen algunos de los grupos funcionales más importantes presentes en las biomoléculas. Entre

ellos, el grupo hidroxilo ($R—OH$) es típico de los alcoholes y glúcidos; el grupo carbonilo, característico de los aldehídos ($R—CHO$) y las cetonas ($R—CO—R'$), aparece en los glúcidos; el grupo carboxilo ($R—COOH$), característico de los ácidos, se encuentra en los aminoácidos, las proteínas y los ácidos grasos; el grupo amino ($R—NH_2$) aparece en los aminoácidos y las proteínas (Recuadro 2-2).

2.2.3 Interacciones moleculares no covalentes

Aunque los enlaces covalentes son fundamentales para la existencia de las biomoléculas, se necesita la existencia de otros tipos de fuerzas, mucho más débiles, para la existencia de la vida. Estas interacciones no covalentes, que se pueden establecer entre iones, moléculas y partes de moléculas, están implicadas en el mantenimiento de las estructuras tridimensionales de las biomoléculas. En la debilidad de la fuerza de estas interacciones radica su importancia, puesto que permiten la continua formación y rotura de estos enlaces, permitiendo la plasticidad, lo que es un requisito necesario para el desarrollo de los procesos vitales.

Tabla 2-2. Grupos funcionales más frecuentes en las biomoléculas. La naturaleza del grupo funcional determina las propiedades del compuesto en el que se encuentra

Compuestos	Estructura del grupo	Nombre de grupo
Alcoholes	$R—OH$	Hidroxilo
Aldehídos	$\begin{array}{c} O \\ \\ R—C—H \end{array}$	Carbonilo
Cetonas	$\begin{array}{c} O \\ \\ R—C—R' \end{array}$	Carbonilo
Ácidos carboxílicos	$\begin{array}{c} O \\ \\ R—C—OH \end{array}$	Carboxilo
Aminas	$R—NH_2$	Amino
Amidas	$\begin{array}{c} O \\ \\ R—C—NH_2 \end{array}$	Amido
Tioles o mercaptanos	$R—SH$	Tiol o mercapto
Ésteres	$\begin{array}{c} O \\ \\ R—C—O—R' \end{array}$	Éster

Recuadro 2-2.**ESTADO DE OXIDACIÓN DEL CARBONO EN LAS BIOMOLÉCULAS**

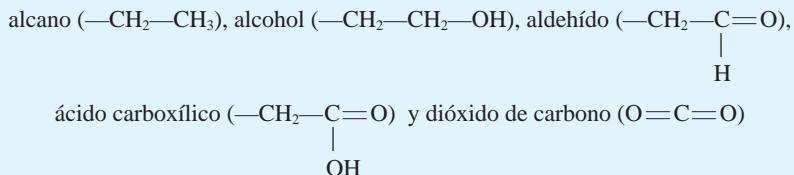
La gran mayoría de los procesos bioquímicos que tienen lugar en las células pueden ser englobados en uno de los siguientes tipos de reacciones químicas: sustitución nucleofílica, eliminación, adición, isomerización y oxidación-reducción.

Las reacciones de oxidación-reducción se producen por transferencia de electrones desde un donador (compuesto reductor) a un aceptor (compuesto oxidante). El compuesto reductor, al

donar sus electrones, se oxida, mientras que el oxidante, al aceptar electrones, se reduce.

Puesto que el átomo de carbono es fundamental en la estructura de las biomoléculas orgánicas, es interesante conocer su estado de oxidación en los distintos grupos funcionales. Cuando dos átomos que comparten electrones en un enlace covalente presentan diferentes afinidades electrónicas, los electrones del enlace presentan mayor tendencia a encontrarse en el entorno del átomo más electronegativo. Así en los enlaces C—H, el átomo de carbono es más electronegativo y, por tanto, los electrones del enlace se encuentran

desplazados hacia el átomo de C. Esto es lo que ocurre en el grupo metilo terminal de los alkanos ($-\text{CH}_3$). En el caso de un enlace C—O, el átomo de oxígeno es más electronegativo que el de carbono, por lo que los electrones se encuentran más desplazados hacia el oxígeno. Ello supone que en una transformación de alcano a alcohol ($-\text{CH}_2-\text{OH}$) el carbono pierde electrones y sufre una oxidación. Al aumentar el número de electrones compartidos con el oxígeno, el carbono pierde más electrones y aumenta su estado de oxidación. Así, el estado de oxidación del carbono aumenta en el siguiente orden:



Como norma general, se produce una oxidación cuando una molécula

gana oxígeno o pierde hidrógeno y se produce una reducción, cuando una

molécula pierde oxígeno o gana hidrógeno.

Entre estas interacciones moleculares destacan:

Fuerzas electrostáticas o interacciones carga-carga. Se establecen entre átomos o grupos de átomos cargados (aniones y cationes). Las fuerzas electrostáticas se rigen por la Ley de Coulomb y la intensidad de las mismas depende del medio en el que se encuentren (expresado por la constante dieléctrica).

Fuerzas polares o interacciones entre dipolos. Se producen entre moléculas que carecen de carga neta pero presentan una distribución interna asimétrica de la carga. Estas moléculas tienen naturaleza polar y se les denomina dipolos eléctricos. Se trata de fuerzas más débiles que las electrostáticas y tienen un alcance inferior. Un dipolo puede ser atraído por un ion próximo (interacción carga-dipolo) o por otro dipolo (interacción dipolo-dipolo entre los polos opuestos).

Fuerzas de van der Waals o fuerzas de dispersión. Se trata de fuerzas atractivas de muy corto alcance originadas por la sincronización de la fluctuación de las cargas electró-

nicas de las moléculas. Sin embargo, existe una distancia (radio de van der Waals) que es la más cercana a la que se pueden situar las moléculas. Para distancias menores, las fuerzas de repulsión electrónica impiden el acercamiento de las moléculas.

Interacciones hidrofóbicas. En un medio acuoso, las moléculas apolares o hidrofóbicas son repelidas por las moléculas de agua, por lo que tienden a agruparse, interaccionando unas con otras.

Enlaces por puente de hidrógeno. Se trata de una interacción entre un átomo de hidrógeno unido covalentemente a un átomo electronegativo de pequeño tamaño (O, N, F) y otro átomo electronegativo con un par de electrones libres. A mayor electronegatividad del átomo unido al hidrógeno, con mayor polaridad positiva queda el hidrógeno y, por tanto, con mayor fuerza es atraído por los pares electrónicos libres del átomo electronegativo de la otra molécula. El enlace por puente de hidrógeno es el tipo de interacción no covalente más fuerte.

2.2.4 Grado de complejidad

En grado creciente de complejidad, las moléculas se pueden clasificar en:

1. *Precursores*, con un peso molecular inferior a 50 Da, como el H₂O, el CO₂ o el NH₃.
2. *Intermedios metabólicos*, con un peso molecular de 50-200 Da, como son el piruvato, el oxalacetato o el citrato.
3. *Unidades estructurales* (100-300 Da) o unidades constitutivas de las macromoléculas, entre las que destacan los monosacáridos (en los polisacáridos), los aminoácidos (en las proteínas), los nucleótidos (en los ácidos nucleicos), el glicerol y los ácidos grasos (en las grasas), etcétera.
4. *Macromoléculas* (10^3 - 10^6 Da), como los polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos, grasas, etcétera.

Además de los apartados precedentes se puede citar un nivel superior de complejidad: el de las *supramacromoléculas* (10^6 - 10^9 Da). Si las biomoléculas se caracterizaban por tener enlaces constitutivos cuya naturaleza es siempre covalente, en las supramacromoléculas los distintos componentes individuales se integran mediante interacciones no covalentes de tipo iónico, hidrófobo, de van der Waals, etcétera. Ejemplos típicos pueden ser los ribosomas (ARN y proteínas), la cromatina (ADN y proteínas) o las membranas (lípidos y proteínas).

Tanto las macromoléculas como las supramacromoléculas suelen presentar varias posibilidades de disposición estructural y su actividad biológica suele coincidir con la forma nativa que, a su vez, es la que presenta una mayor estabilidad termodinámica.

RESUMEN

- Los elementos químicos que forman parte de la materia viva se denominan bioelementos y se suelen clasificar por su abundancia.
- Los primarios (H, O, C, N) poseen unas características que les permiten una amplia gama de posibilidades a la hora de formar biomoléculas.
- Las biomoléculas pueden poseer naturaleza orgánica (proteínas, glúcidos, lípidos, ácidos nucleicos) o inorgánica (agua, gases, sales inorgánicas).
- Los átomos se unen por medio de enlaces químicos, entre ellos los iónicos y covalentes, para formar moléculas.
- Los grupos funcionales son agrupaciones de un pequeño número de átomos que le confieren a cada molécula las características propias de su clase. Además de los enlaces entre átomos, existen diferentes tipos de interacciones no covalentes entre moléculas, que son necesarias para el mantenimiento de la vida.
- Entre ellas se encuentran las fuerzas electrostáticas, fuerzas polares, fuerzas de van der Waals, interacciones hidrofóbicas, enlaces por puente de hidrógeno, que permiten un amplio grado de complejidad, desde los precursores más sencillos a las más complejas macromoléculas y asociaciones supramacromoleculares.

EVALUACIÓN

1. (A). En función de su complejidad, la molécula de piruvato puede ser clasificada como:
 - a. Un precursor.
 - b. Un intermedio metabólico.
 - c. Una unidad estructural.
 - d. Una macromolécula.
 - e. Una supramacromolécula.

2. (A). De los siguientes bioelementos, señale cuál no se considera como bioelemento secundario:
 - a. K
 - b. Cl
 - c. Fe
 - d. Mn
 - e. S

3. (A). Señale el bioelemento primario presente en todos los compuestos orgánicos:
 - a. O
 - b. Mg
 - c. Ca
 - d. P
 - e. C

4. (A). Escoja la afirmación correcta sobre el bioelemento sodio.
 - a. Es un bioelemento traza.
 - b. Es un bioelemento secundario.
 - c. Es un bioelemento primario.
 - d. Es un oligoelemento.
 - e. Su deficiencia origina la enfermedad carencial conocida como bocio.

5. (A). Sólo uno de los bioelementos primarios se encuentra entre los 8 más abundantes en la corteza terrestre. Señálelo:
 - a. H
 - b. O
 - c. C
 - d. N
 - e. P

6. (A). Uno de los siguientes bioelementos no es un oligoelemento. Señálelo:
 - a. Na
 - b. Zn
 - c. Mn
 - d. I
 - e. Cu

7. (A). Escoja la relación correcta en lo referente al tamaño de las siguientes moléculas:
 - a. Albúmina > ácido oleico > leucina > agua
 - b. Ácido oleico > albúmina > leucina > agua
 - c. Leucina > albúmina > ácido oleico > agua
 - d. Albúmina > leucina > ácido oleico > agua
 - e. Ácido oleico > leucina > albúmina > agua

8. (A). En orden decreciente, los 4 elementos más abundantes del cuerpo humano son:
 - a. H, O, C, N.
 - b. O, Fe, H, C.
 - c. C, O, H, N.
 - d. H, C, N, O.
 - e. H, O, N, C.

9. (A). Los átomos más importantes en los seres vivos:
 - a. No tienen posibilidad de hibridación de orbitales.
 - b. El más abundante es el carbono.
 - c. Son los que poseen mayor tamaño.
 - d. Suelen formar fácilmente enlaces covalentes.
 - e. Todo lo anterior es cierto.

10. (A). Respecto al átomo cuya notación electrónica es $1s^2 2s^2 2p_x^1 2p_y^1 2p_z^1$:
 - a. Es uno de los más abundantes de la corteza terrestre.
 - b. No puede formar enlaces múltiples.
 - c. Está presente en el enlace éster.
 - d. Se encuentra en los hidratos de carbono y está ausente en los nucleótidos.
 - e. Es uno de los cuatro más abundantes de las biomoléculas.

11. (C). Los elementos atómicos más abundantes en el ser humano son de pequeño tamaño y forman enlaces covalentes muy fuertes PORQUE la estabilidad de estos enlaces es inversamente proporcional al tamaño atómico de los átomos que intervienen.

a b c d e

12. (B). Complejidad de las biomoléculas. Están correctamente relacionados:
 1. Glucosa con unidad estructural.
 2. Oxalacetato con intermedio metabólico.
 3. CO₂ con precursor.
 4. Glucógeno con macromolécula.

a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Castillo F, Blasco R, Luque-Romero MM *et al.*: El periplasma procariota. *Inv y C* 2003; junio: 74-82.
- Losada M, Vargas MA, de la Rosa MA *et al*: *Los elementos y moléculas de la vida*. Rueda, 1998; Cap. 1.
- Olson AJ, Goodsell DS: Representación visual de las moléculas. *Inv y C* 1993; enero: 28-36.
- Weinberger RA: Moléculas de la vida. *Inv y C* 1985; diciembre: 12-23.

UN PROTAGONISTA EXCEPCIONAL: EL AGUA

3

3.1 EL AGUA

No puede existir vida sin agua. Para que los procesos vitales tengan lugar es necesaria la presencia del agua, ya que casi todas las reacciones bioquímicas de los organismos tienen lugar en medios acuosos. Las propiedades físicas y químicas del agua, derivadas de su particular estructura, permiten que la vida pueda desarrollarse. Es un disolvente casi universal (sólo las moléculas apolares son insolubles en agua), lo que posibilita que las biomoléculas puedan reaccionar y ser transportadas en un medio acuoso. Además, la propia molécula de agua puede intervenir como reactivo o producto en muchas de las reacciones bioquímicas que ocurren en los seres vivos. Su débil ionización proporciona el entorno ácido-básico adecuado para todos estos procesos. Con su disociación, el agua posibilita la disociación de compuestos iónicos, lo que permite que los diferentes iones puedan desempeñar sus funciones en todos los organismos. Asimismo, es un excelente termorregulador corporal, lo que posibilita que la temperatura de los organismos homeotermos se mantenga constante.

El agua es la biomolécula más abundante de los seres vivos. En el ser humano constituye un 65-70% del peso del cuerpo, debiéndose mantener alrededor de estos valores. De lo contrario, tras un fallo de la regulación hídrica, el organismo sufriría graves situaciones patológicas (Recuadro 3-1).

Aunque el contenido total es prácticamente constante, existe una gran variabilidad en la proporción de agua, según los distintos tejidos. En general, los más activos presentan una proporción más elevada (tejido embrionario, vísceras y órganos, en el intervalo 60-90%). En los tejidos envejecidos (fases avanzadas del desarrollo) y en los tejidos poco activos, la proporción disminuye (33% en el tejido esquelético y 30% en el adiposo).

3.1.1 Estructura molecular del agua

La estructura de la molécula de H_2O tiene carácter tetraédrico, con una hibridación sp^3 del átomo de oxígeno, situado en el centro, y con los dos átomos de hidrógeno dispuestos en dos de los vértices de dicho tetraedro (Fig. 3-1). Las dos restantes

Recuadro 3-1. ALTERACIONES DEL EQUILIBRIO HÍDRICO

El control del volumen de los compartimentos acuosos, su presión osmótica, composición, etcétera, es un proceso muy bien regulado, en el que intervienen, entre otras, la hormona de la neurohipófisis, vasopresina (reabsorción renal del agua), la hormona de la corteza suprarrenal, aldosterona (reabsorción renal del sodio) y el factor o péptido natriurético auricular (ANP), hormona liberada por las paredes auriculares del corazón, con efectos combinados, que globalmente favorecen la eliminación urinaria de sodio y agua, así como el descenso de la presión arterial.

Cuando ocurre un desequilibrio y los mecanismos de regulación no pueden resolver el problema, se producen alteraciones del equilibrio o metabolismo hídrico, como son la deshidratación o disminución del volumen acuoso y la sobrehidratación o exceso de volumen acuoso en el organismo. Estos trastornos hídricos pueden venir acompañados de alteraciones en la concentración extracelular de electrólitos. Así, pueden producirse hidrataciones o deshidrataciones isotónicas (si no existe modificación en la presión osmótica de los electrólitos), hipertónicas (si se da un aumento en la concentración) e hipotónicas (si hay una disminución). En estos casos, el ion que usualmente sufre una modifi-

cación en su concentración normal es el catión sodio. En general, el organismo puede tolerar hasta una alteración del 10% en el contenido de agua. Por encima de este porcentaje puede sobrevenir la muerte del individuo, sobre todo en casos de deshidratación, en los que para compensar la pérdida de agua intersticial se ha de recurrir al agua intracelular o plasmática, que es vital para el correcto funcionamiento del organismo. Los síntomas de una deshidratación pueden ser: debilidad, vértigo, náuseas, dolor de cabeza, taquicardia, vasoconstricción, hipertensión, entre otros. En una sobrehidratación pueden aparecer: edema, dolor de cabeza, náuseas, hipertensión, etcétera.

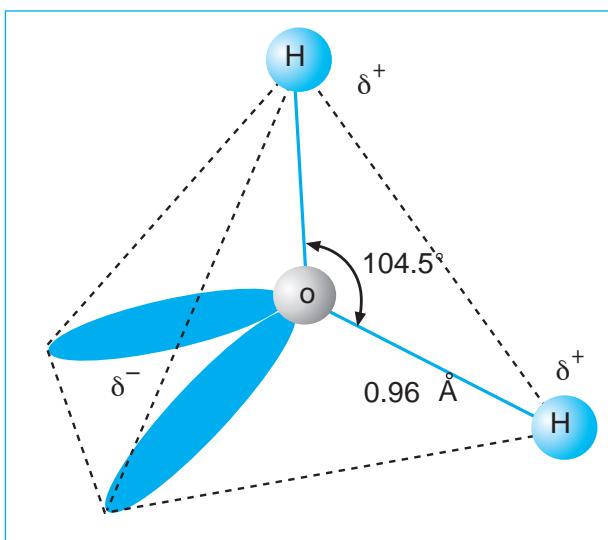


Figura 3-1. Estructura de la molécula de agua. Tiene carácter tetraédrico, con el átomo de oxígeno en el centro y los dos átomos de hidrógeno en dos de los vértices del tetraedro. Hacia los otros dos vértices se sitúan los otros dos orbitales, ocupados cada uno de ellos por un par de electrones.

direcciones de enlace corresponden a los otros dos orbitales, ocupados cada uno de ellos por una pareja de electrones. El ángulo entre los dos átomos de hidrógeno (HOH) es de 104.5° y la distancia de enlace entre oxígeno e hidrógeno (O—H) es de 0.96 Å. La mayor electronegatividad del oxígeno con respecto al hidrógeno, determina una distribución asimétrica de la carga electrónica, con mayor densidad electrónica sobre el oxígeno y, por tanto, un déficit electrónico sobre los hidrógenos. En consecuencia, la molécula de agua es un *dipolo eléctrico*, sin carga neta.

Esta estructura molecular y su naturaleza dipolar condicionan muchas de las propiedades físicas y químicas del agua, debido fundamentalmente a la posibilidad de establecimiento de *puentes de hidrógeno* entre moléculas acuosas y de éstas con otras moléculas. Un enlace por puente de hidrógeno se efectúa entre un átomo electronegativo y el átomo de hidrógeno unido covalentemente a otro átomo electronegativo. Este enlace es mucho más débil que los enlaces covalentes, formándose y rompiéndose con mayor rapidez que estos últimos. Cada molécula de agua puede interaccionar por puentes de hidrógeno con otras cuatro moléculas de agua (Fig. 3-2). En estado sólido (hielo) parece que esta disposición de moléculas constituiría una unidad estructural espacial tetraédrica, a veces denominada estructura de *tetrahidrol*, que se repetiría continuamente formando el entramado del agua sólida (Fig. 3-3).

Para el agua líquida se han propuesto muchos modelos estructurales. El más aceptado es el modelo de los *racimos*

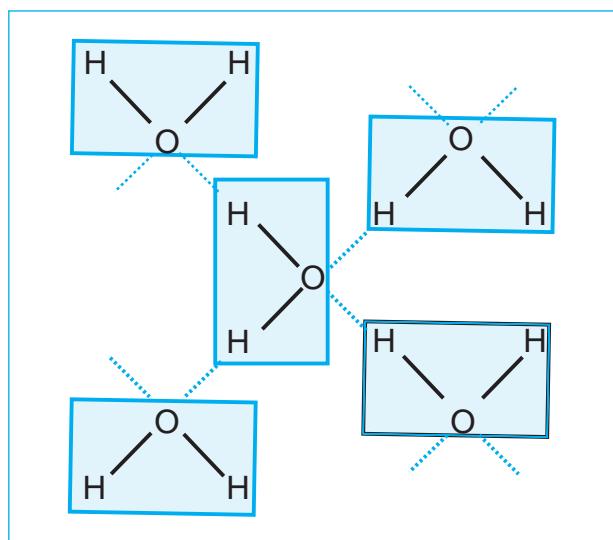


Figura 3-2. Enlaces por puentes de hidrógeno de una molécula de agua. Cada molécula de agua puede interaccionar por puentes de hidrógeno con otras cuatro moléculas de agua.

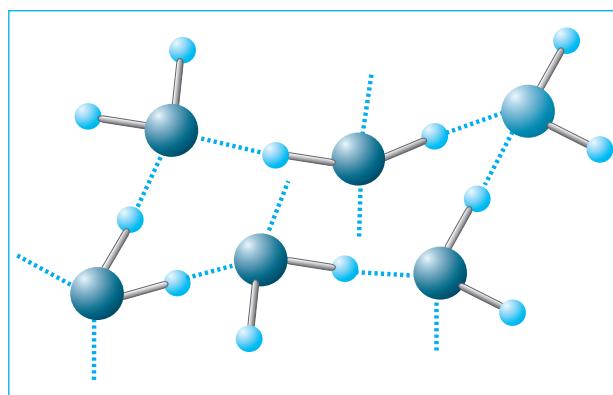


Figura 3-3. Estructura del agua en estado sólido (hielo). El entramado del agua sólida se origina por la disposición espacial tetraédrica de la molécula de agua, constituyendo una unidad estructural, denominada tetrahidrol, que se repite de forma continua.

parpadeantes: racimos abiertos, que cambiarían de forma, constituidos por moléculas de agua unidas por enlaces de hidrógeno en continua formación y escisión.

3.1.2 Propiedades físicas y químicas del agua

Como se ha mencionado, la estructura molecular del agua y la capacidad de formar puentes de hidrógeno constituyen el fundamento de las propiedades físicas y químicas del agua.

Las siguientes son las principales:

1. *Densidad máxima a 4 °C.* Este comportamiento anómalo permite que el hielo flote en el agua. Y, con ello, la existencia de vida marina en los casquetes polares ya que el hielo flotante actúa como aislante térmico, impidiendo que la masa oceánica se congele.

2. *Elevada temperatura de ebullición.* En comparación con otros hidruros del grupo del oxígeno (H_2S , H_2Se , etc.), la temperatura de ebullición del H_2O es mucho más elevada (100 °C a 1 atmósfera, frente a los -60.7 °C del H_2S). Esto hace que el agua se mantenga líquida en un amplio margen de temperatura (0-100 °C), lo que posibilita la vida en diferentes climas, incluso a temperaturas extremas.

3. *Elevado calor específico* (1 cal/g · °C: calor necesario para elevar la temperatura de 1 g de agua en 1 °C concretamente desde 15 a 16 °C). Este alto valor permite que en el organismo ocurran importantes cambios de calor con escasa modificación de la temperatura corporal. Por ello, el agua es un excelente mecanismo regulador de la temperatura del organismo, fundamentalmente a través de la circulación sanguínea, evitando alteraciones peligrosas.

4. *Elevado calor de vaporización.* Por término medio el número de enlaces por puente de hidrógeno, con una energía de enlace de 2.8 Kcal/mol, es 4 para el agua sólida, 3.5 para la líquida y 0 para la gaseosa. Ello significa que su calor de fusión equivale a 80 cal/g y que el de vaporización es de unas 540 cal/g. Este valor elevado permite eliminar el exceso de calor, por evaporación de cantidades relativamente pequeñas de agua. Ello posibilita, cuando es necesario, mantener la temperatura del organismo más baja que la del medio ambiente. Por tanto, la vaporización continua de agua por la piel y los pulmones (unos 500 mL diarios por la respiración) constituye un excelente mecanismo regulador de la temperatura. La evaporación del sudor (unos 700 mL diarios) también contribuye a este mantenimiento, con lo que globalmente ello supone la eliminación total de unas 620 kcal diarias.

5. *Elevada conductividad calorífica.* Permite una adecuada conducción de calor en el organismo, contribuyendo a la termorregulación, al mantener constante e igualar la temperatura en las diferentes zonas corporales.

6. *Elevada constante dieléctrica* ($\epsilon = 80$ a 20 °C). Implica que el agua sea un buen disolvente de compuestos iónicos y sales cristalizadas. El elevado valor de esta constante supone que las moléculas de agua se oponen a la atracción electrostática entre los iones positivos y negativos, debilitando dichas fuerzas de atracción.

7. *Disolvente de compuestos polares de naturaleza no iónica.* Ello sucede por la capacidad del agua de establecer

puentes de hidrógeno con grupos polares de otras moléculas no iónicas. Así, puede disolver compuestos tales como alcohol, ácidos, aminas y glúcidos.

8. *Capacidad de hidratación o solvatación de iones.* El carácter dipolar del agua determina que sus moléculas rodeen a los distintos iones, aislándolos del resto. A este fenómeno se le denomina hidratación o solvatación de iones y facilita, a su vez, la separación de iones de diferente carga, lo que contribuye a la solubilización de compuestos iónicos. La esfera de solvatación o hidratación puede producir cambios en el radio iónico efectivo de un ion: así, por ejemplo, el catión sodio sin hidratar presenta menor radio iónico (0.096 nm) que el del catión potasio (0.133 nm); sin embargo, cuando se encuentran hidratados, el radio iónico efectivo del sodio (0.256 nm) es mayor que el del potasio (0.198 nm), debido a las moléculas de agua que lo hidratan, rodeando al ion.

9. *Disolvente de moléculas anfipáticas.* El agua solubiliza compuestos anfipáticos (se llaman así aquellos que presentan en su estructura grupos polares y apolares simultáneamente). Esta solubilización lleva consigo la formación de micelas, con los grupos apolares o hidrófobos en su interior y los grupos polares o hidrófilos orientados hacia el exterior para contactar con el agua. Ésta y las propiedades anteriores determinan que el agua sea considerada como el disolvente universal, sobre todo en lo que se refiere al organismo, permitiendo la realización de procesos de transporte, nutrición, ósmosis, etcétera, cuya ausencia haría imposible el desarrollo de la vida.

10. *Elevada tensión superficial.* Determina una elevada cohesión entre las moléculas de su superficie y facilita su función como lubricante en las articulaciones. La tensión superficial disminuye con la presencia en el líquido de ciertos compuestos que reciben el nombre genérico de tensioactivos (jabones, detergentes, etc.), que facilitan la mezcla y emulsión de grasas en el medio acuoso; así, las sales biliares ejercen esta acción tensioactiva en el intestino delgado, facilitando la emulsión las de grasas y, con ello, la digestión. Asimismo, el epitelio alveolar secreta una sustancia fosfolípídica (derivada de la lecitina) que hace disminuir la tensión superficial del agua que reviste los alveolos. De no existir esta macromolécula, no se podría producir la expansión pulmonar, colapsándose las estructuras alveolares.

11. *Transparencia.* Esta propiedad física no afecta directamente al ser humano, pero es importante para que se origine el proceso de fotosíntesis en la masa oceánica y fondos marinos. Como éste es el comienzo de una cadena trófica que finaliza en la nutrición humana, la transparencia acuosa contribuye al adecuado desarrollo de la vida.

12. *El agua es un electrólito débil.* Ello se debe a la naturaleza de su estructura molecular. Libera el mismo catión que los ácidos (H^+ o H_3O^+ ; ion hidrógeno o protón, o ion hidronio) y el mismo anión que las bases (OH^- ; ion hidroxilo). Por tanto, el agua es un anfólito o sustancia anfótera, es decir, puede actuar como ácido o como base.

El equilibrio de disolución es:



aunque se puede simplificar expresándolo como:



El hecho de que el agua se comporte como un electrólito débil viene determinado porque el equilibrio se encuentra muy desplazado hacia la izquierda. A 25 °C, la concentración de protones y de iones hidroxilo es aproximadamente de 10^{-7} M.

3.1.3 Funciones bioquímicas y fisiológicas del agua

Las funciones bioquímicas y fisiológicas que el agua desempeña en el organismo se basan en las propiedades fisicoquímicas anteriores. Entre ellas destacan:

1. El agua actúa como componente estructural de macromoléculas, como proteínas y polisacáridos, entre otros, ya que estabiliza su estructura, fundamentalmente a través de la formación de puentes de hidrógeno.
2. El agua, como disolvente universal de sustancias, tanto iónicas como anfipáticas y polares no iónicas, permite que en su seno se produzcan casi todas las reacciones bioquímicas, y es, además, un excelente medio de transporte en el organismo.
3. El agua es el sustrato o el producto de diversas reacciones enzimáticas. Puede actuar como cosustrato en reacciones catalizadas por *hidrolasas* e *hidratasas*, o puede ser el producto de reacciones catalizadas por *oxidases*. Asimismo, participa como reactante o como producto en infinidad de vías metabólicas.
4. El carácter termorregulador del agua permite conseguir un equilibrio de temperaturas en todo el cuerpo, la disipación de cantidades elevadas de calor metabólico, la refrigeración corporal tras un ejercicio intenso o la exposición a temperaturas elevadas, etcétera.

3.1.4 Ingestión y excreción del agua

En los seres humanos, los valores considerados como normales son los siguientes, aunque pueden existir grandes variaciones de ellos en determinadas circunstancias:

a) Ingestión media (3000 mL)

Bebida: 1500 mL

Alimentos: 1000 mL

Oxidación metabólica: 500 mL

b) Excreción (3000 mL)

Respiración: 600 mL

Transpiración, evaporación: 800 mL

Orina: 1500 mL

Heces: 100 mL

3.1.5 Compartimentación acuosa corporal

Según su compartimentación, el agua corporal se puede clasificar en agua intracelular y extracelular. La primera existe en el interior de la célula, tanto en el citosol como en el resto de las estructuras celulares, y constituye un 70% del total del agua existente en el organismo.

Esta *agua intracelular* se puede clasificar a su vez en:

- Agua libre, de la que puede disponer la célula de inmediato y con facilidad.
- Agua ligada o asociada, que es la que se encuentra unida a estructuras y entidades macromoleculares.

El *agua extracelular* constituye un 30% del contenido total del agua en el organismo y se puede clasificar en:

- Agua plasmática, en la que se incluye el agua del plasma y de la linfa, y que supondría un 7% del total.
- Agua intersticial, que comprende el agua presente en el líquido intersticial, en el líquido cefalorraquídeo, en el humor ocular, etcétera. Supone un 23% del total del agua del organismo.

El cálculo del volumen de los compartimentos acuosos corporales tiene un gran interés para la detección y el estudio de diversas situaciones patológicas, y se realiza inyectando en el plasma sustancias que se distribuyen selectivamente en los diferentes compartimentos. Por ejemplo, el agua deuterada (2H_2O) o el agua tritiada (3H_2O) se reparte uniformemente por todos los compartimentos acuosos y se utiliza para medir el agua corporal total; la inulina (polisacárido de fructosa de origen vegetal) queda restringida a los espacios extracelulares y se usa para determinar el volumen de líquido extracelular. La albúmina marcada (^{125}I -albúmina) solamente se distribuye en el plasma y sirve para medir el volumen plasmático. El volumen de agua intracelular se calcula por diferencia entre el agua corporal total y el volumen de agua extracelular. De forma análoga, el volumen de líquido intersticial se calcula por diferencia entre el volumen de líquido extracelular y el volumen plasmático.

3.2 DISOLUCIONES

Una *disolución* se puede definir como una combinación homogénea de varios componentes, con composición variable. El concepto de disolución se diferencia de otros relacionados, como mezclas, compuestos, suspensiones, dispersiones y emulsiones. Así, una *mezcla* es un sistema heterogéneo de composición variable, que está formado por dos o más porciones diferentes, separadas por superficies netas, que definen la separación brusca de sus propiedades respectivas. Cada porción homogénea que constituye una mezcla se denomina fase. Una *fase* es un material homogéneo, uniforme en toda su extensión, no sólo en su composición química, sino también en su estado físico (p. ej., la mezcla de agua y arena está constituida por dos fases).

También podemos diferenciar las disoluciones de los *compuestos*, que presentan una naturaleza homogénea, pero cuya composición es invariable.

Una *suspensión* se puede definir como una mezcla heterogénea que puede separarse fácilmente por filtración; en ella, el tamaño de las partículas es grande, de forma que puede sedimentar con mucha facilidad. Por el contrario, una verdadera disolución no sedimenta, ni siquiera mediante fuerzas centrífugas.

Entre ambos extremos existen sistemas en los que las partículas son tan pequeñas que pasan a través de todos los filtros corrientes, son invisibles al microscopio óptico y no se depositan después de un largo reposo, pudiendo sedimentar tras ultracentrifugación. Estas pseudodisoluciones se denominan *dispersiones* o *disoluciones coloidales* y se definen como sistemas heterogéneos sin separación de fases. Si las fases de una dispersión coloidal son líquidas, esa dispersión recibe el nombre de *emulsión*.

Los componentes de una disolución suelen denominarse soluto y disolvente. *Soluto* es la sustancia que se disuelve y constituye la denominada fase discontinua de la disolución. *Disolvente* es el medio en el que se disuelve el soluto y constituye la fase continua. En el caso común de disoluciones de sólidos en líquidos, el soluto es el sólido y el disolvente es el líquido. Sin embargo, la ambigüedad puede aparecer cuando se trata de disoluciones con componentes líquidos y gaseosos. En general, en estos casos se denomina disolvente al componente presente en mayor proporción. Además, las disoluciones pueden clasificarse según el número de componentes que las integran; así, puede hablarse de disoluciones binarias, ternarias, cuaternarias, etcétera.

3.2.1 Expresiones de la concentración

Para expresar la composición de una disolución es necesario referirse a la concentración relativa de sus componentes. De

forma general y poco precisa, si la concentración de soluto es baja, hablaremos de disolución diluida; si es alta, de disolución concentrada y, si se encuentra en el límite de solubilidad, la denominaremos disolución saturada. No obstante, para definir correctamente la concentración de una disolución, debemos recurrir a alguna de las siguientes expresiones:

a) Expresiones en forma de porcentaje

1. *Tanto por ciento en peso*: unidades de peso de soluto en 100 unidades de peso de disolución (p. ej., una disolución al 5% en peso implicaría que existen 5 g de soluto en 100 g de disolución).
2. *Tanto por ciento en volumen*: unidades de volumen de soluto en 100 unidades de volumen de disolución (p. ej., una disolución al 5% en volumen implicaría que existen 5 mL de soluto en 100 mL de disolución).
3. *Tanto por ciento en peso/volumen*: unidades de peso de soluto en 100 unidades de volumen de disolución (p. ej., una disolución al 5% en peso/volumen implicaría que existen 5 g de soluto en 100 mL de disolución). En general, si la concentración de una disolución se menciona en tanto por ciento escuetamente, sin aludir a unidades de peso o volumen, se considera un porcentaje peso/volumen.

b) Expresiones en forma absoluta

Existen muchos tipos. Los más utilizados son: el número de gramos por litro de disolución (g/L); el número de miligramos por mililitro de disolución (mg/mL), equivalente a la anterior; o las expresiones volumen:volumen, que indican la proporción de volumen de cada componente puro que integra una disolución. En la práctica sanitaria, quizás la más utilizada es la que refleja el número de gramos o miligramos existentes en 100 mL de disolución (g/100 mL o mg/100mL).

c) Expresiones químicas

1. *Molaridad (M)*: número de moles de soluto existentes en un litro de disolución.
2. *Molalidad (m)*: número de moles de soluto existentes en un kilogramo de disolvente.
3. *Normalidad (N)*: número de equivalentes-gramo de soluto existentes en un litro de disolución.
4. *Fracción molar (X)*: número de moles de un componente de la disolución, con respecto al número total de moles de todos los componentes que integran la disolución.

3.3 ÁCIDOS, BASES Y pH

Los electrólitos (sustancias cuya disociación iónica en solución hace que puedan conducir la corriente eléctrica) se clasifican en ácidos, bases y sales. Las sales, a su vez, pueden ser ácidas, básicas o neutras.

Svante Arrhenius denominó ácidos a las sustancias que al disociarse dan lugar a protones libres (H^+) (p. ej., el HCl); bases, a las que al disociarse originan iones hidroxilo (OH^-) (p. ej., el NaOH); y sales neutras, a los compuestos que originan iones distintos al ion hidrógeno y al ion hidroxilo (p. ej., el NaCl).

Sales ácidas serían aquéllas en las que existe una sustitución parcial de los protones por cationes ($KHSO_4$, sulfato ácido de potasio), mientras que sales básicas serían aquéllas en las que se da una sustitución parcial de los hidroxilos por aniones ($Mg(OH)_2$, yoduro básico de magnesio).

Otra de las teorías históricas es la que se debe a *Brönsted y Lowry*. En ella se propone que ácido es toda sustancia que puede ceder protones, mientras que base es toda sustancia capaz de aceptar protones.

Con posterioridad, *Lewis* extendió la teoría de acidez y basicidad a consideraciones electrónicas. Así, ácido sería toda sustancia que puede aceptar un par de electrones y base toda sustancia capaz de ceder un par de electrones.

3.3.1 Ionización del agua. Escala de pH

Como se indicaba anteriormente, el agua es un electrólito débil cuyas moléculas se disocian en muy pequeña cantidad (tan sólo 1 molécula de cada $5.53 \cdot 10^8$, a $25^\circ C$). Aunque ya se señaló que lo que verdaderamente ocurre es un equilibrio en el que está implicado el ion hidronio, esa disociación puede expresarse en forma del siguiente equilibrio químico equivalente:



Tal equilibrio de disociación hace que el agua, de acuerdo con las teorías de acidez y basicidad expuestas, se comporte como una sustancia anfótera o anifíprótica, ya que actúa al mismo tiempo como ácido y como base.

De acuerdo con el equilibrio de disociación del agua que se acaba de formular, y teniendo en cuenta que a $25^\circ C$ la constante de este equilibrio es $1.8 \cdot 10^{-16} M$ y que la concentración molar del agua es $55.5 M$, se cumple que:

$$K_w = [H^+] \cdot [OH^-] = 10^{-14} M^2$$

que es la expresión de la denominada constante del *producto iónico del agua*. Como es lógico, en el agua pura las concentraciones molares de iones hidrógeno e hidroxilo son iguales:

$$[H^+] = [OH^-] = 10^{-7}$$

Estos valores de concentración son los correspondientes a una disolución neutra. Si al agua pura se añade un ácido, la concentración de protones aumenta con respecto a la de hidroxilos, de forma que para una disolución ácida $[H^+] > 10^{-7}$ y $[OH^-] < 10^{-7}$, aunque el producto de ambas concentraciones sigue siendo 10^{-14} . De forma análoga, la adición de una base determina $[H^+] < 10^{-7}$ y $[OH^-] > 10^{-7}$, condiciones que se dan en el caso de una disolución básica.

Así, por ejemplo, una disolución 1 M de NaOH, totalmente disociada, como corresponde a una base fuerte (véase más adelante), presenta un valor de $[OH^-] = 1 M$ y de $[H^+] = 10^{-14} M$. Por el contrario, una disolución 1 M de HCl totalmente disociada, como corresponde a un ácido fuerte, tendría un valor de $[OH^-] = 10^{-14} M$ y de $[H^+] = 1 M$.

Los valores ínfimos de concentración de protones e hidroxilos son incómodos para el trabajo habitual. Por ello, en 1909, Søreh Peter Sørensen, bioquímico danés, estableció la denominada escala de pH (abreviatura de potencial de hidrógeno, ya que el pH varía proporcionalmente al potencial de un electrodo de hidrógeno introducido en la disolución).

El pH se define como el logaritmo decimal de la concentración molar de iones hidrógeno, hidrogeniones o iones hidronio, con el signo cambiado:

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

Análogamente, se define el pOH como el logaritmo decimal de la concentración molar de iones hidroxilo, con el signo cambiado. Lógicamente, a partir de la constante del producto iónico del agua se deduce que en una disolución cualquiera, la suma de los valores de pH y de pOH es 14.

En función del pH, las disoluciones pueden clasificarse en:

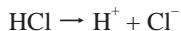
- Neutras: si el valor del pH es igual a 7.
- Ácidas: si el valor del pH es inferior a 7.
- Básicas: si el valor del pH es superior a 7.

Así, por ejemplo, una disolución de HCl de concentración $10^{-3} M$ presentará una concentración de iones hidrógeno igual a 10^{-3} y su pH será igual a $-\log 10^{-3}$, es decir, su pH será 3. Por tanto, se tratará de una disolución de carácter ácido.

3.3.2 Ácidos y bases débiles

Los ácidos y las bases que hemos mencionado hasta el momento, forman parte del grupo de los denominados *ácidos y bases fuertes*. Se denominan así los ácidos o bases que en disolución se encuentran totalmente disociados, coincidiendo, por tanto, la concentración del ácido o la base con la de iones hidrógeno o iones hidroxilo, respectivamente.

Así, por ejemplo, una disolución de HCl de concentración 10^{-5} M origina una $[H^+] = 10^{-5}$ M, teniendo en cuenta que se produce la siguiente disociación completa:



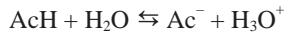
Sin embargo, en su mayor parte, los ácidos y las bases que regulan el pH del cuerpo humano, que mantienen los potenciales de acidez en las estructuras correspondientes y el del medio extracelular en un valor próximo a 7.4, y los que desempeñan funciones importantes en el metabolismo son *ácidos o bases débiles*, es decir, se encuentran poco disociados. Según el grado de disociación, los ácidos o las bases serán más o menos fuertes; así, serán más fuertes cuanto mayor sea su disociación. Esta disociación viene regida por la denominada *constante de disociación o ionización* del ácido o de la base, representadas por lo general como K_a o K_b .

Veamos un caso particular, por ejemplo, el del ácido acético. Se trata de un ácido débil en el que lógicamente, al no estar completamente disociado, la concentración de hidrogeniones que libera es menor que la concentración del ácido.

El equilibrio del ácido acético viene expresado como:



aunque en realidad el equilibrio que se establece es:



Aplicando la ley de acción de masas a este equilibrio, quedaría:

$$K_a = \frac{[Ac^-] \cdot [H_3O^+]}{[AcH] \cdot [H_2O]}$$

y, ya que la concentración de agua se puede considerar constante, la englobamos en el valor de K_a y obtenemos la expresión:

$$K_a = \frac{[Ac^-] \cdot [H_3O^+]}{[AcH]}$$

Estas constantes de disociación de ácidos o bases débiles suelen tener valores bajos, de orden exponencial negativo. Así, para el ácido acético a 25 °C es de $1.76 \cdot 10^{-5}$. Por ello, se utiliza una forma de expresión análoga a la escala de pH, definiendo el pK_a como el logaritmo decimal de la constante de disociación del ácido, con el signo cambiado. De igual forma, se define el valor del pK_b .

$$pK_a = -\log K_a; pK_b = -\log K_b$$

Así, para el ácido acético el valor del pK_a es de 4.75.

Es fácilmente deducible que el pK_a de un ácido puede definirse como el valor del pH para el que el 50% del ácido se encuentra disociado.

Por otra parte, dado un equilibrio $AH \rightleftharpoons A^- + H^+$, el par AH/A^- puede ser considerado como un *sistema ácido-base conjugado*. Así, AH sería el ácido, mientras que A^- sería su base conjugada. Es evidente que a mayor fuerza del ácido, más débil es su base conjugada, y viceversa. Para un sistema ácido-base conjugado se puede deducir con facilidad que $pK_a + pK_b = pK_w = 14$.

3.3.3 Disoluciones reguladoras

Como hemos mencionado anteriormente, los valores de pH en el organismo deben permanecer casi constantes (en torno a 7.4 en el medio extracelular) (Tabla 3.1). Por debajo de 7.0 o por encima de 7.8, puede sobrevenir la muerte del individuo. Por esta razón, el mantenimiento de la homeostasis ácido-base fisiológica es fundamental. Para lograr esta constancia de pH, el cuerpo humano utiliza tres estrategias diferentes:

- a) *Amortiguadores fisiológicos (disoluciones reguladoras)*.
- b) *Ventilación pulmonar*.
- c) *Filtración renal*.

Podemos definir disolución reguladora, disolución amortiguadora, tampón, o *buffer* como la disolución formada:

- a) Por un ácido débil y la sal de su base conjugada; por ejemplo, ácido acético/acetato sódico.
- b) Por una base débil y la sal de su ácido conjugado; por ejemplo, amoníaco/cloruro amónico.

Tabla 3-1. Valores de pH de los líquidos corporales

Sangre arterial	7.40
Sangre venosa	7.35
Líquido intersticial	7.35
Líquido intracelular	6.0 a 7.4 (6.9 a 7.2, rango más habitual)
Jugo gástrico	1.0 a 3.5
Jugo pancreático	8.0 a 8.3
Bilis	7.8
Jugo intestinal	7.5 a 8.0
Orina	4.5 a 8.0
Sudor	3.8 a 5.6
Leche materna	7.4
Saliva	6.0 a 7.0
Semen	7.5

En ambos casos, se trata de disoluciones que admiten la adición de ácido o base sin que se modifique apreciablemente el pH de la disolución. Se define *capacidad amortiguadora* de una disolución reguladora la cantidad de ácido o base que, añadida a dicha disolución, produce una variación máxima de una unidad en el pH. Siguiendo con los ejemplos anteriores, una buena disolución reguladora contendría, en proporciones análogas un ácido débil y su forma disociada (su base conjugada) procedente de la sal correspondiente.

El equilibrio, como ya se ha expresado anteriormente sería:



De acuerdo con el *principio de Le Chatelier-Braun*, la adición de ácido desplazaría el equilibrio hacia la izquierda, mientras que la adición de base lo haría hacia la derecha, al consumirse los iones hidrógeno para formar agua. En ambos casos, al final del proceso, la concentración de iones hidrógeno libres tenderá a ser igual a la inicial.

Aplicando la ley de acción de masas al equilibrio anterior, podemos obtener la ecuación de *Henderson-Hasselbalch*, utilizada para el estudio y cálculo de los equilibrios ácido-base de las disoluciones reguladoras. En efecto, si consideramos un ácido débil AH, la mayor parte del mismo se encuentra en forma no disociada, con una fracción muy pequeña de iones A⁻ y H⁺. Por ello, al añadir la sal correspondiente, casi todos los aniones en disolución proceden de la misma. Por tanto, en disoluciones amortiguadoras diluidas, se puede considerar que la concentración del ácido no disociado (AH) es igual a la concentración total del ácido, y la concentración del anión o base conjugada (A⁻) es igual a la concentración total de sal. Consideradas estas premisas y aplicando la ley de acción de masas al equilibrio [3.1], obtendrámos:

$$Ka = \frac{[A^-] \cdot [H^+]}{[AH]}$$

Despejando H⁺, se obtiene:

$$[H^+] = \frac{Ka \cdot [AH]}{[A^-]}$$

Al aplicar logaritmos:

$$\log [H^+] = \log Ka + \log \frac{[AH]}{[A^-]}$$

Considerando las definiciones de pKa y pH, y cambiando de signo, se obtiene:

$$pH = pKa + \log \frac{[A^-]}{[AH]}$$

o lo que es igual:

$$pH = pKa + \log \frac{[Sal]}{[Ácido]}$$

expresión final de la ecuación de Henderson-Hasselbalch.

De forma análoga, para una disolución básica, se puede deducir la expresión de Henderson-Hasselbalch como:

$$pH = pKa + \log \frac{[Base]}{[Sal]}$$

De la expresión de Henderson-Hasselbalch se puede deducir una serie de hechos:

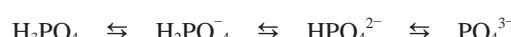
1. El valor de pH de una disolución reguladora depende de la proporción relativa de ácido/sal o base/sal; no depende de sus concentraciones absolutas.
2. Sin embargo, estas concentraciones absolutas sí que influyen en la capacidad de amortiguación. Al aumentar la concentración de la disolución reguladora, aumenta la capacidad para amortiguar los cambios de pH.
3. La amortiguación es máxima cuando el pH del medio coincide con el pKa de la disolución. Esto sucede cuando las concentraciones de ácido y sal o de base y sal son iguales. Generalmente, las disoluciones reguladoras tamponan bien hasta valores de pH una unidad por encima o por debajo del valor de su pKa, es decir, cuando la proporción sal/ácido o base/sal no es inferior a 1:10 o superior a 10:1. Fuera de este intervalo, la capacidad de amortiguación disminuye considerablemente.

Disoluciones reguladoras fisiológicas

Los principales sistemas amortiguadores de pH en el organismo, que contribuyen al mantenimiento del mismo en el margen adecuado, son los siguientes:

1. **Amortiguador fosfato.** La disociación del ácido fosfórico, ácido triprotónico, se desarrolla con la pérdida de un protón en cada equilibrio establecido, al que corresponde un valor de pKa determinado.

Estos equilibrios son los siguientes:

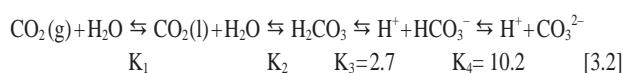


$$pK_a_1 = 2.21 \quad pK_a_2 = 6.80 \quad pK_a_3 = 12.70$$

A efectos de regulación fisiológica, el equilibrio que más interesa es el segundo, ya que el pKa₂ que lo gobierna se encuentra próximo al pH del medio extracelular (7.4). Suele ser buen amortiguador, aunque su concentración en plasma

es baja. Es más importante en los líquidos tubulares de los riñones y en el medio intracelular, ya que en ellos el pH es algo menor y el fosfato se encuentra más concentrado. El fosfato puede encontrarse en forma libre (sal inorgánica) o asociado con otras moléculas orgánicas (lípidos, azúcares, etc.).

2. Amortiguador bicarbonato. En este caso, hay que tener en cuenta varios equilibrios. En primer lugar, el CO₂ gaseoso puede disolverse en el agua. Este CO₂ disuelto puede reaccionar con el agua produciendo ácido carbónico que, por ionizaciones sucesivas, da lugar al ion bicarbonato y al ion carbonato. En resumen:



$$K_1 = \frac{[\text{CO}_2(\text{l})]}{\text{pCO}_2}$$

$$K_2 = \frac{[\text{H}_2\text{CO}_3]}{[\text{CO}_2(\text{l})]}$$

$$K_3 = \frac{[\text{HCO}_3^-] \cdot [\text{H}^+]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} \quad [3.3]$$

por lo que:

$$K_1 \cdot K_2 \cdot K_3 = K_a = \frac{[\text{HCO}_3^-] [\text{H}^+]}{\text{pCO}_2}$$

y,

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{\text{pCO}_2} \quad \text{con un valor de pKa} = 6.1 \quad [3.4]$$

A efectos prácticos, las ecuaciones anteriores se pueden simplificar en:



Aunque el valor de pKa (6.1) se encuentra alejado del pH fisiológico, el sistema bicarbonato actúa eficazmente, ya que existen mecanismos que tienden a mantener constante el cociente [HCO₃⁻]/pCO₂. Efectivamente, la concentración de bicarbonato puede regularse a través de su mayor o menor eliminación renal. En cuanto a la pCO₂, se regula a través de la ventilación pulmonar. (Obsérvese que la concentración de ácido carbónico es proporcional a la pCO₂; cuanto menor sea la eliminación de anhídrido carbónico, mayor será la concentración de ácido.) Por tanto, al existir mecanismos que tienden a conservar relativamente constantes las concentra-

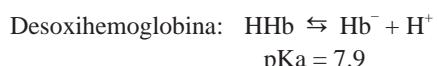
ciones de la sal (bicarbonato) y del ácido (carbónico), también se mantiene invariable su cociente, de lo que se deriva su capacidad reguladora, aunque las concentraciones relativas de ambos difieran en un factor próximo a 20.

Este sistema carbónico/bicarbonato es el principal tampon extracelular, tanto en la sangre como en los líquidos intersticiales. Permite que el pH de la sangre arterial sea de 7.40 y el de la sangre venosa lo sea de 7.35 (esta presenta mayor concentración de anhídrido carbónico).

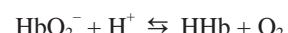
3. Proteínas. Las proteínas constituyen otro sistema regulador del pH sanguíneo, junto a los aminoácidos, pero donde adquieren verdadera importancia es en el interior de la célula. El poder amortiguador de las proteínas se basa en su composición aminoacídica. Varios de los distintos aminoácidos proteicos poseen una cadena lateral ionizable, con su correspondiente pKa, lo que permite que la proteína sea un buen amortiguador a diferentes valores de pH.

4. Hemoglobina. Dentro de las proteínas, debe destacarse la hemoglobina por su importancia en la respiración y su abundancia en la sangre (eritrocitos). El sistema global regulador es el constituido por las dos formas individuales, hemoglobina y oxihemoglobina/oxihemoglobina.

Lo más característico de este sistema doble es que, dependiendo de que la hemoglobina se encuentre oxigenada o no, el pKa del equilibrio correspondiente cambia, lo que le permite una mayor versatilidad a la hora de regular el pH. Así, los equilibrios de disociación son:



Por otra parte, ambos sistemas están relacionados ya que:



De los valores de pKa, se puede deducir que la desoxihemoglobina es un ácido más débil que la oxihemoglobina.

En condiciones de producción de anhídrido carbónico (respiración celular), formación de ácido carbónico y la correspondiente acidificación, los protones convierten el oxihemoglobinito en desoxihemoglobina, y con ello, se amortigua el efecto acidificante y se libera el oxígeno. Por otra parte, en los pulmones el efecto es el contrario. Lógicamente, el lugar de regulación del sistema hemoglobina es allí donde se encuentra, es decir, en el interior del eritrocito.

Alcalosis y acidosis

Cuando se produce una alteración en los valores del pH del organismo, las soluciones fisiológicas reguladoras que se

acaban de comentar constituyen la primera opción para tratar de subsanar el problema; posteriormente, se recurre a la regulación de la ventilación pulmonar y, finalmente, a la regulación de la filtración renal. La acción coordinada de estos sistemas para evitar los efectos negativos del aumento o la disminución protónica se suele denominar *principio isohídrico* de mantenimiento del pH.

La alcalosis y la acidosis son alteraciones patológicas del pH del organismo. Se pueden clasificar en metabólicas (producidas por disfunciones o anomalías del metabolismo o renales) y respiratorias (producidas por alteraciones o problemas originados en las vías respiratorias, que afectan a la pCO_2).

Acidosis

La acidosis o disminución del pH en el organismo puede clasificarse, según lo anteriormente expuesto, en acidosis metabólica y acidosis respiratoria.

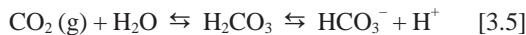
a) *Acidosis metabólica*

Causas. Puede deberse a:

- 1) Defecto renal en la excreción de protones o reabsorción de bicarbonato (insuficiencia renal; acidosis tubular renal).
- 2) Pérdidas de bicarbonato (diarreas alcalinas; fístulas intestinales; vómitos de contenido intestinal).
- 3) Aumento en el aporte de ácidos (producción metabólica excesiva, como en la diabetes mellitus, en el ayuno o en el ejercicio anaerobio; ingesta de tóxicos como metanol o salicilatos).
- 4) Hipoaldosteronismo (Enfermedad de Addison).

Compensación. El organismo tiende a compensar cualquier alteración con los medios de que dispone. En este caso, puede recurrir a:

1. Hiperventilación o taquipneia (ventilación pulmonar profunda y rápida) para eliminar cantidades elevadas de anhídrido carbónico. Recordemos los equilibrios:



Al aumentar la ventilación, se elimina anhídrido carbónico, por lo que el equilibrio se desplaza hacia la izquierda, lo que hace que disminuya la concentración de protones y aumente el pH.

2. Si la acidosis no tiene un origen renal, se produce retención de bicarbonato o eliminación de protones, o ambos mecanismos, por el riñón. Disminuye así el pH de la orina, aumentando consecuentemente el pH del organismo.

Tratamiento. El tratamiento clínico más sencillo consiste en la administración oral de bicarbonato sódico. También se utiliza la infusión al enfermo por vía intravenosa de soluciones isotónicas de naturaleza ligeramente alcalina: por ejemplo, infusiones de tampón Tris, [tris-(hidroximetil)aminometano], también llamado trometamina.

b) *Acidosis respiratoria*

Causas. Se origina por insuficiencia en la ventilación pulmonar, lo que determina que el equilibrio [3.5] se desplace hacia la derecha, liberándose iones hidrógeno.

Esta hipoventilación puede deberse a:

- 1) Lesiones pulmonares (edema pulmonar, enfisema, neumonía, bronquitis).
- 2) Ingestión de drogas depresoras del centro respiratorio (barbitúricos).
- 3) Respiración de aire con elevado porcentaje de CO_2 .

Compensación. Se produce en el riñón un aumento de la reabsorción de bicarbonato y de la excreción de protones, con lo que el pH del medio interno aumenta.

Tratamiento. El mejor tratamiento consiste en el aumento del volumen de ventilación o respiración pulmonar, utilizando aparatos de respiración asistida que faciliten al enfermo la ventilación. Asimismo, se pueden utilizar los tratamientos empleados para la acidosis metabólica.

Alcalosis

La alcalosis o incremento del pH en el medio interno también se puede clasificar como alcalosis metabólica o respiratoria, según sus causas:

a) *Alcalosis metabólica*

Causas. Puede deberse a:

- 1) Aumento de las pérdidas de ácidos (vómitos continuos de origen gástrico, con pérdida de HCl).
- 2) Administración de diuréticos (aumento de la reabsorción de Na^+ y excreción de H^+).
- 3) Ingestión de compuestos alcalinos (fármacos alcalinos para tratamiento, p. ej., de gastritis o úlceras gástricas).
- 4) Hiperaldosteronismo (síndrome de Conn).

Compensación:

1. Bradipnea o hipopnea (disminución de la ventilación pulmonar). Esta hipoventilación supone un aumento en la concentración de anhídrido carbónico en el organismo, el subsiguiente desplazamiento del equilibrio [3.5] hacia la derecha y la liberación de protones al medio, disminuyendo el pH.

2. Aumentando la excreción de bicarbonato o reteniendo protones. Sube así la basicidad de la orina y disminuye el pH en el organismo.

Tratamiento. En este caso, el tratamiento consiste en la administración de cloruro amónico por vía oral. También se ha utilizado el monoclorhidrato de lisina y de arginina. Estos compuestos también se pueden infundir al paciente por vía intravenosa.

b) Alcalosis respiratoria

Causas. Este tipo de alcalosis se produce por hiperventilación pulmonar. En este caso, el equilibrio [3.5] se desplaza hacia la izquierda, ya que se elimina anhídrido carbónico, con lo que disminuye la concentración de protones y aumenta el pH.

La hiperventilación puede ser originada por:

- 1) Estímulo del centro respiratorio (trastornos de ansiedad, neurosis, crisis nerviosas).
- 2) Hipoxia (respiración en altitud, anemia, insuficiencia cardíaca).

Compensación. Tiene lugar en el riñón, aumentando la eliminación del anión bicarbonato y la retención de protones para reducir el pH del medio interno. También existe compensación por una producción metabólica elevada de ácido láctico y pirúvico, como respuesta a la baja pCO₂ y al pH elevado.

Tratamiento. Aumento del espacio no oxigenado. El paciente inspira el propio anhídrido carbónico que espira, lo que aumenta la concentración de CO₂ en el organismo y desplaza el equilibrio [3.5] hacia la derecha, con la consiguiente liberación de protones y disminución de la basicidad. En la práctica, ello se consigue colocando una bolsa de plástico o papel que cubra las vías respiratorias externas (fosas nasales y boca) y obligando al paciente a respirar aire enriquecido en CO₂.

En el Recuadro 3-2 se resumen algunos trastornos del equilibrio ácido-base.

3.4 IONES

3.4.1 Disoluciones iónicas

Anteriormente hemos aludido a los *electrólitos* y a los diferentes tipos que pueden existir (ácidos, básicos y salinos). La Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales define electrólito como «sustancia que en estado líquido o en disolución conduce la corriente eléctrica por contener iones libres».

A partir de este término, se puede establecer una nueva clasificación de las soluciones, según la naturaleza del soluto que contienen y su capacidad de conducción de la corriente eléctrica. Según estos criterios, pueden existir *disoluciones moleculares* y *disoluciones iónicas*.

Las disoluciones moleculares son aquéllas en las que el soluto se disuelve en forma de moléculas sin disociar, por lo

Recuadro 3-2.

TRASTORNOS MIXTOS DEL EQUILIBRIO ÁCIDO-BASE

En ciertas ocasiones, pueden coexistir dos, o incluso tres, de las alteraciones típicas del equilibrio ácido-base (*alcalosis metabólica*, *acidosis metabólica*, *alcalosis respiratoria* y *acidosis respiratoria*). Los cinco trastornos mixtos más habituales son los siguientes:

- *Acidosis metabólica y acidosis respiratoria:* típicas del paciente con parada cardiopulmonar grave. La insuficiencia circulatoria origina acidosis láctica; la insuficiencia respiratoria determina el aumento de la concentración de CO₂ en sangre (hipercapnia).

- *Acidosis metabólica y alcalosis respiratoria:* en pacientes con sepsis, ya que la insuficiencia cardiovascular produce acidosis láctica, mientras que la fiebre y la endotoxemia estimulan el centro respiratorio y originan hipocapnia.

En estados de embriaguez se origina cetoacidosis y, al mismo tiempo, alcalosis respiratoria por hiperventilación, como consecuencia del *delirium tremens*.

- *Acidosis metabólica y alcalosis metabólica:* en pacientes en los que concurren vómitos de contenido gástrico (que dan lugar a alcalosis metabólica) y acidosis, como la cetoacidosis diaética o alcohólica, o la determinada por insuficiencia renal.

- *Alcalosis metabólica y alcalosis respiratoria:* típica en mujeres embarazadas,

en las que a la hipocapnia característica de ese estado (que provoca alcalosis respiratoria) se añade la alcalosis metabólica de los vómitos.

- *Alcalosis metabólica y acidosis respiratoria:* en aquellos pacientes con enfermedad pulmonar crónica (acidosis respiratoria) que sufren vómitos, o están sometidos a tratamiento con diuréticos (alcalosis metabólica).

Un ejemplo de trastorno mixto con tres alteraciones es el que suele aparecer en los estados de embriaguez en los que existen vómitos frecuentes. A la acidosis metabólica, debida a la cetoacidosis, se unen la alcalosis respiratoria por hiperventilación y la alcalosis metabólica por los vómitos.

que el número de partículas existentes en disolución coincide con el número de moléculas de la misma. Estas disoluciones no conducen la corriente eléctrica y se denominan también no electrolíticas. Las disoluciones de glúcidos o alcoholes constituyen ejemplos de este tipo.

Por el contrario, disoluciones iónicas son aquéllas en las que el soluto se disuelve en forma de iones, es decir, sus moléculas se disocian y, por tanto, el número de partículas o entidades existentes en disolución es superior al número de moléculas de la misma. Conducen la corriente eléctrica y se denominan disoluciones electrolíticas. Una disolución de NaCl constituye un ejemplo de este tipo.

Conviene señalar que los solutos suelen modificar las propiedades del disolvente. Dentro de las propiedades del disolvente que pueden modificarse, existe un grupo que no depende de la naturaleza del soluto, sino del número de partículas disueltas. Estas propiedades se denominan *propiedades coligativas*. Para su cuantificación es indispensable conocer la naturaleza iónica o molecular del soluto, ya que lo que verdaderamente importa es el número total de partículas.

Así, por ejemplo, una disolución de glucosa con un número X de moléculas también contiene un número X de partículas, mientras que una disolución de NaCl con un número X de moléculas posee un número de partículas igual a 2X.

Entre las propiedades coligativas se encuentran las siguientes:

- Descenso crioscópico*: la presencia del soluto hace que disminuya la temperatura de congelación respecto a la del disolvente puro.
- Ascenso ebulloscópico*: del mismo modo, se produce el aumento de la temperatura de ebullición respecto a la del disolvente puro.
- Descenso de la presión de vapor*: la presencia del soluto origina la disminución de la presión producida por la vaporización de moléculas del disolvente.
- Presión osmótica*: consecuencia del fenómeno de ósmosis, que se considera a continuación.

Figura 3-4. Ósmosis y presión osmótica. En la situación inicial, dos disoluciones de diferente concentración se encuentran separadas por una membrana semipermeable (izquierda). Las moléculas de disolvente atraviesan la membrana desde la disolución menos concentrada a la más concentrada. En la situación final (derecha), se alcanza el equilibrio al igualarse las concentraciones a ambos lados de la membrana.

Osmosis y presión osmótica

Si una disolución se pone en contacto con su disolvente o con una disolución más diluida a través de una membrana permeable, esto es, una membrana que deje pasar las moléculas de soluto, al cabo de un tiempo, debido a la difusión de soluto y disolvente, la concentración de la disolución tiende a igualarse a ambos lados de la membrana, alcanzándose un equilibrio dinámico entre ellos.

Sin embargo, la situación varía si la disolución se pone en contacto con el disolvente o con una disolución más diluida a través de una membrana semipermeable, que sólo permite el paso de moléculas de disolvente, pero no las de soluto. Cuando esto se produce, la tendencia a alcanzar el equilibrio determina un paso neto de moléculas de disolvente desde la disolución diluida (o desde el compartimento del disolvente puro) hacia la disolución concentrada, a través de dicha membrana. Este fenómeno se denomina ósmosis (del griego, *osmos*, impulso).

Considerando este fenómeno de ósmosis, se puede definir la presión osmótica de una disolución como la presión mecánica (hidrostática) necesaria para mantener una disolución en equilibrio con su disolvente puro y evitar que éste atraviese la membrana semipermeable (Fig. 3-4).

El cálculo numérico de esta presión osmótica en disoluciones diluidas se lleva a cabo utilizando la *ecuación de van't Hoff*, en la que dicha presión osmótica puede equipararse a la presión de los gases. Así, se cumple que:

$$\pi = i \cdot M \cdot R \cdot T$$

donde,

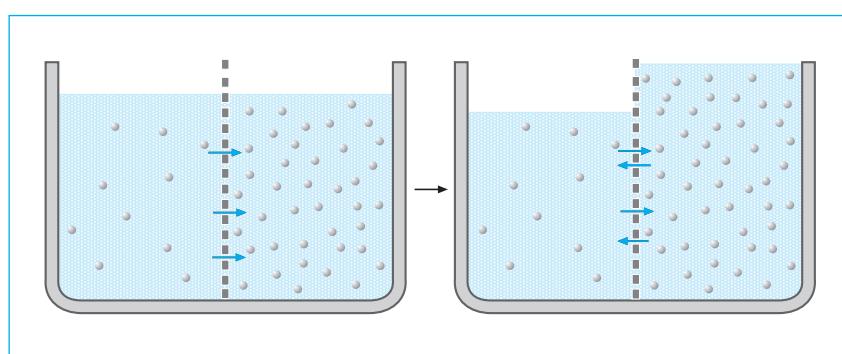
π = presión osmótica

i = factor de van't Hoff (medida del grado de ionización de los solutos)

M = molaridad de la disolución

R = constante de los gases ($0.082 \text{ atm} \cdot \text{L} / ^\circ\text{K} \cdot \text{mol}$)

T = temperatura absoluta (en $^\circ\text{K}$)



En ocasiones, la concentración de una disolución puede expresarse utilizando el término de *osmolaridad* (osmolles/L). En la ecuación de van't Hoff, la osmolaridad viene expresada por el producto iM , en el que i expresa el grado de ionización o disociación del soluto. Así, para una disolución diluida de NaCl, i es igual a 2. La presión osmótica es, por tanto, proporcional a la osmolaridad de una disolución.

El término osmolaridad puede considerarse sinónimo de *tonicidad*. De esta manera, dadas dos disoluciones cualesquiera, diremos que son isotónicas si presentan la misma presión osmótica o la misma osmolaridad. Una de ellas es hipertónica (A) con respecto a la otra (B), si presenta mayor presión osmótica u osmolaridad (por tanto, si se encuentran separadas por una membrana semipermeable, existirá un flujo neto de disolvente desde la B hacia la A). La disolución B, con menor presión osmótica u osmolaridad que la A, se denominará hipotónica con respecto a la A (por tanto, dicha disolución B tenderá a una disminución de volumen por el ya citado flujo de disolvente desde B hacia A).

La tonicidad de las disoluciones tiene una gran importancia fisiológica, ya que el medio externo celular debe ser isotónico con el interno; de lo contrario, se producirían transferencias de agua, alteraciones que pondrían en peligro el adecuado funcionamiento del organismo.

Así, por ejemplo, podemos considerar el caso de los glóbulos rojos o eritrocitos, que puede hacerse extensivo a cualquier tipo de célula animal. En condiciones normales, las células se encuentran rodeadas de un líquido extracelular isotónico, el plasma (su tonicidad es equivalente a la de una disolución de NaCl al 0.9%). Sin embargo, si se introducen los eritrocitos en un medio hipotónico o disolvente puro, tienden a tomar agua y aumentar su volumen, produciéndose el fenómeno de *turgencia*, que lleva consigo finalmente la destrucción total de la célula. En el caso particular del eritrocito, la ruptura celular se conoce con el nombre de *hemólisis*.

Si, por el contrario, la célula se introduce en un medio o disolución hipertónica (por ejemplo, NaCl al 3%), tiende a perder agua, que saldría desde la célula hacia el medio, con lo que se produciría el proceso de *retracción*, que recibe el nombre genérico de *plasmólisis*, lo que supondría, asimismo, la muerte celular. En el caso del hematíe, a este proceso se le denomina *crenación*.

Las membranas plasmáticas son más permeables al agua que a los iones y a otras moléculas pequeñas. Esta permeabilidad selectiva se debe a la simple difusión del agua a través de la membrana y a la presencia de canales proteicos para el agua establecidos por las *acuaporinas* (Recuadro 3-3).

Estos fenómenos se producen con mayor dificultad cuando las células se encuentran recubiertas por una estructura más rígida que la membrana celular, la denominada *pared celular*. Dicha pared permite que bacterias, hongos,

levaduras y células vegetales puedan subsistir en medios hipertónicos o hipotónicos. Asimismo, permite la existencia de la denominada *presión de turgencia* (presión osmótica del interior de la célula sobre la pared celular), que es la que le confiere rigidez al organismo vegetal.

3.4.2 Disoluciones coloidales

Como se señaló con anterioridad existe un tipo especial de disoluciones, las denominadas disoluciones o dispersiones coloidales, que se definen como sistemas heterogéneos sin separación de fases. El diámetro de la partícula de soluto es intermedio entre el de las suspensiones y el de las verdaderas disoluciones. Por ello, no sedimentan simplemente por gravedad y es necesario recurrir a la ultracentrifugación para conseguirlo.

Como disoluciones que son, están constituidas por solutos y disolventes. El soluto se denomina *fase dispersa* o *dispersoide*, mientras que el disolvente es la *fase dispersante* o *medio de dispersión*.

Dos propiedades características de estas disoluciones coloidales son:

— *Efecto Tyndall*. Se origina por la reflexión y la refracción de la luz producidas al chocar ésta con las partículas coloidales, originando la dispersión de la radiación luminosa.

— *Movimiento browniano*. Consiste en un movimiento caótico, al azar, con trayectoria irregular de las partículas coloidales. La razón del mismo es la existencia de choques múltiples entre las partículas de soluto y las moléculas del medio.

La importancia bioquímica de las dispersiones coloidales estriba en que las macromoléculas biológicas, como las proteínas, los ácidos nucleicos o los polisacáridos, dan lugar a disoluciones coloidales cuando se disuelven. Estas macromoléculas presentan una superficie de contacto con el agua rica en grupos polares e iónicos, atrayendo un gran número de moléculas de agua (agua ligada o asociada).

Las disoluciones coloidales están implicadas en algunas propiedades fisiológicas importantes. Son responsables de la existencia del *efecto Gibbs-Donnan*, que puede describirse como la desigual distribución de iones difusibles a ambos lados de una *membrana de diálisis o dialítica* (membrana que permite el paso al agua o disolvente puro y a los iones, pero que por su tamaño de poro impide el paso de una macromolécula o soluto coloidal). Esta distribución desigual se debe a la carga electrostática del coloide y a la imposibilidad de éste de atravesar la membrana, lo que determina la retención de los contraíones correspondientes para mantener la neutralidad electrónica de la disolución, a ambos lados de la membrana.

Recuadro 3-3.

ACUAPORINAS

Las células son capaces de mover agua con rapidez a través de sus membranas, como respuesta a modificaciones de la presión osmótica. El mecanismo responsable de este trasiego de moléculas de agua fue elucidado por el Dr. Peter Agre de la John Hopkins University, a comienzos de la década de los noventa. Este descubrimiento le hizo merecedor de la concesión del Premio Nobel de Química en el año 2003.

Las acuaporinas constituyen una familia de proteínas integrales de membrana (véase el Cap. 10) que proporcionan canales para el movimiento rápido del agua a través de la membrana plasmática. Como ejemplo de la eficiencia de estas proteínas, la acuaporina AQP-1, la primera descubierta, permite un flujo de unos mil millones de moléculas de agua por segundo a través de su canal. Además, el paso de iones o pequeños solutos no está permitido. La razón para que otras moléculas o iones de menor tamaño, como los H^+ , no puedan atravesar estos canales estriba en la naturaleza del mecanismo de paso. Parece ser que para que se produzca éste se necesita la formación de enlaces por puente de hidrógeno entre las moléculas que lo atraviesan, como el agua, y alguno de los aminoácidos que conforman el canal.

Se ha descrito la existencia de acuaporinas (AQP) en casi la totalidad de los seres vivos. En los humanos se han caracterizado más de una decena, con localizaciones y funciones diferentes. Unas, como ocurre con la AQP-1, son absolutamente específicas para el transporte de agua. A este grupo pertenecen, junto a la citada AQP-1, la AQP-0, AQP-2, AQP-4 y AQP-5. Otras, como las AQP-3, AQP-7 y AQP-9 son muy permeables al agua, pero permiten el paso de algunos solutos pequeños. En cuanto a la localización, cada una de ellas tiene una distribución particular, aunque varias de ellas pueden coincidir en el mismo órgano o tejido con análogas o diferentes funciones.

Así, en el riñón se ha descrito la presencia de AQP-1 (reabsorción de agua en el túbulito proximal); AQP-2, AQP-3 y AQP-4 (permeabilidad del agua en el conducto colector); AQP-6 (transporte de agua en el túbulito proximal y en el conducto colector). En las vías respiratorias se ha encontrado AQP-1 (homeostasis de agua en el pulmón); AQP-5 (secreción de líquido en el epitelio). En el cerebro aparecen AQP-1 (secreción de líquido cefalorraquídeo); AQP-4 (regulación del líquido extravascular). En el ojo se ha detectado AQP-0 (hidratación del cristalino) AQP-1 (secreción de humor acuoso); AQP-5 (secreción de líquido en la córnea y lagrimales). En el eritrocito se descubrió la AQP-1 (supervivencia de eritrocitos en

la médula). En las glándulas salivales se ha encontrado AQP-5 (secreción de saliva). En el hígado aparece AQP-8 (secreción de bilis). En las glándulas sudoríparas se halla la AQP-5 (secreción de sudor). En el intestino delgado se ha descrito la presencia de AQP-10 (absorción de agua).

Habida cuenta de las funciones de las acuaporinas y de su ubicuidad, las patologías relacionadas con ellas podrían ser muy numerosas. Entre las estudiadas podemos citar algunas:

Una mutación de AQP-2 renal produce la aparición de diabetes insípida nefrogénica, enfermedad en la que AQP-2 no responde a la hormona vasopresina, originando la excreción de grandes volúmenes de orina diluida. Por otro lado, una sobreproducción de AQP-2 origina retención hídrica en el embarazo, cirrosis y cardiopatías. En el pulmón, la alteración en la expresión AQP-1 y AQP-5 produce la aparición de edema pulmonar. En el cerebro, la elevada síntesis de AQP-4 está implicada en la presencia de edemas cerebrales. En el ojo, determinadas mutaciones de AQP-0 conducen a la existencia de cataratas. Una alteración en AQP-5 está implicada en la aparición del síndrome de Sjögren, afección que cursa con queratoconjuntivitis y xerostomía (ojos y boca secos). Asimismo, la síntesis disminuida de AQP-4 parece estar asociada a la aparición de la distrofia muscular de Duchenne.

En el organismo, por su abundancia relativa y por su localización, los coloides que fundamentalmente dan lugar a este efecto son las proteínas, en cuya estructura aparecen grupos cargados debido a su composición aminoacídica.

El efecto tiene importancia fisiológica en los casos en los que se dan las condiciones para su existencia. Éste es el caso, por ejemplo, del eritrocito. La concentración de iones cloruro en el interior del mismo es menor que en el plasma: aproximadamente, $[Cl^-]_{\text{erit.}} = 0.7 \cdot [Cl^-]_{\text{plasma}}$. Esto sucede debido a que la membrana celular del eritrocito actúa como una membrana dialítica y en su interior hay una elevada concentración de hemoglobina, la proteína transportadora de oxígeno.

La presión osmótica ejercida por una disolución coloidal recibe el nombre de *presión oncótica*, *presión osmótico-coloidal* o *coloidosmótica*. Resulta de la suma de tres factores:

1. La presión osmótica que ejercen las partículas coloidales propiamente dichas. En general, debido al tamaño elevado de estas partículas (macromoléculas), incluso las disoluciones muy concentradas (en peso) contienen un número relativamente pequeño de partículas. Por tanto, la presión osmótica que pueden ejercer no es excesivamente grande.
2. La presión osmótica adicional producida por la existencia de un exceso de partículas permeables junto a los coloides, debido al efecto Gibbs-Donnan.
3. La atracción del agua que llevan a cabo los coloides, que tienden a ligar gran cantidad de moléculas de disolvente en su superficie, existiendo, por tanto, el mismo número de partículas o entidades de soluto, pero en un volumen inferior de disolvente efectivo.

3.4.3 Diálisis

La *diálisis* puede definirse como un proceso en el que se produce la separación de moléculas de una disolución, en función de su tamaño, al encontrarse en contacto con una membrana de tamaño de poro selectivo. Esta membrana es de tipo dialítico y permite el paso de moléculas de disolvente (agua) y de iones difusibles (cloruro, sodio, etc.), pero en función del tamaño de poro, impide el paso de las macromoléculas que superan dicho tamaño. Por tanto, la función fundamental de la diálisis consiste en la separación de macromoléculas de moléculas más pequeñas e iones.

En Bioquímica este proceso es muy interesante, ya que permite la purificación de soluciones de macromoléculas, tales como las proteínas. Con este procedimiento se consigue la eliminación de iones difusibles o de otras moléculas pequeñas que pueden estar impurificando la preparación.

Desde el punto de vista fisiológico, estos procesos dialíticos se producen en numerosas estructuras del organismo. Un par de ejemplos son los intercambios de disolvente y iones entre plasma y líquido intersticial y los procesos de filtración renal.

En la práctica clínica, la diálisis tiene una aplicación más inmediata en el proceso conocido con el nombre de *hemodiálisis*, que se utiliza para la purificación de la sangre (eliminación de sustancias tóxicas) en pacientes que sufren ciertas disfunciones renales, por las que el proceso de destoxicificación sanguínea no puede llevarse a cabo con normalidad.

Para efectuar una hemodiálisis se utiliza una membrana dialítica, que actúa como barrera separadora entre la sangre y una disolución reguladora con la adecuada tonicidad. Al ponerse en contacto la sangre con esta membrana, los productos de degradación sanguíneos (urea, ácido úrico, creatinina, etc.) abandonan la sangre, migrando hacia la disolución tamponada. Lógicamente, las macromoléculas (proteínas, polisacáridos, etc.) y las células sanguíneas no pueden atravesar la membrana y, por tanto, permanecen en el torrente sanguíneo.

3.4.4 Iones en el cuerpo humano. Distribución

Los líquidos y tejidos corporales presentan un contenido en iones característico y constante para cada estructura. Desde un punto de vista evolutivo, los seres que se encuentran en estadios inferiores de evolución poseen una concentración de electrólitos en su agua corporal muy semejante a la del agua marina. A medida que se asciende en la escala filogenética y, por tanto, aumenta el grado de diferenciación de los seres vivos, se produce un enriquecimiento selectivo de los líquidos y tejidos corporales, dependiendo de las funciones que deben llevar a cabo las distintas estructuras y líquidos.

En el organismo humano, la tonicidad del plasma, del líquido intersticial y del líquido intracelular es prácticamente uniforme, con ligeras diferencias debidas al mayor contenido de proteínas en el plasma y líquido intracelular, lo que supone una leve diferencia en la distribución iónica, originada fundamentalmente por el efecto Gibbs-Donnan.

En lo referente al contenido de iones, se aprecian diferencias, sobre todo, en lo que concierne al líquido intracelular. El plasma y el líquido intersticial presentan composiciones muy similares, mientras que la composición del líquido intracelular es muy diferente. Ello hace que se puedan clasificar los iones (aniones y cationes) en los que son típicamente intracelulares y los que son típicamente extracelulares.

Si se observa la composición iónica expresada en la Tabla 3-2, podemos colegir que el sodio es un ion típicamente extracelular, al igual que el cloruro; sin embargo, el potasio y el fosfato son iones típicamente intracelulares. Ello es importante en muchos fenómenos fisiológicos, como los flujos iónicos y la transmisión intraneuronal, que serán comentados en el Capítulo 33.

Las diferencias entre el contenido intracelular y el extracelular vienen determinadas por una serie de características de la célula.

1. La existencia de la membrana celular, que actúa como barrera con capacidad de regulación, permitiendo el paso restringido de unos iones en una dirección u otra, incluso en contra de gradientes de concentración, o impidiendo el acceso o la salida de otros.
2. El ya mencionado efecto Gibbs-Donnan, originado por la elevada concentración de proteínas en el interior celular.

Tabla 3-2. Concentraciones de iones en los líquidos corporales

	Plasma	Líquido intersticial	Líquido intracelular
Na ⁺	142.0	139.0	14.0
K ⁺	4.2	4.0	140.0
Ca ⁺²	1.3	1.2	0.0
Mg ⁺²	0.8	0.7	20.0
Cl ⁻	108.0	108.0	4.0
HCO ₃ ⁻	24.0	28.3	10.0
SO ₄ ²⁻	2.0	2.0	11.0
HPO ₄ ²⁻ , H ₂ PO ₄ ⁻	2.0	2.3	140.0

Los valores se expresan en miliosmoles/litro

3. La posibilidad de un enriquecimiento de iones en determinadas estructuras, por unión a ligandos característicos, formando complejos. Un ejemplo puede ser la elevada concentración de iones calcio en el retículo sarcoplásmico de fibras musculares, por unión a la proteína calsecuestrina.

En cuanto a las funciones que desempeñan los iones, se puede hablar de las específicas y de las inespecíficas. Las primeras son diferentes, en función del ion de que se trate. Así, por ejemplo, Na^+ y K^+ están implicados, entre otros procesos, en el mantenimiento del potencial de membrana; Fe^{2+} , en el transporte de oxígeno; Ca^{2+} , en la contracción muscular, etcétera. Las funciones inespecíficas no dependen de la naturaleza del ion en cuestión, sino de la presencia del mismo. El ejemplo típico es su contribución al mantenimiento de la presión osmótica.

3.4.5 Alteraciones patológicas

La adecuada concentración de cada ion en las distintas estructuras corporales es necesaria para el correcto funciona-

miento de todo el organismo. El aumento o la disminución de alguno de ellos por encima o por debajo de límites tolerables, puede suponer un peligro para las funciones vitales. A su vez, la detección de este desequilibrio es un indicador de que puede existir una alteración patológica en el organismo responsable de tal aumento o disminución.

Como ejemplo, se pueden citar dos enfermedades en las que está implicada la hormona aldosterona y en las que se produce una alteración en el suero y en la excreción urinaria de las concentraciones de iones sodio y potasio, debido a problemas de reabsorción de estos iones en el riñón.

Enfermedad de Addison, en la que existe un nivel bajo de aldosterona (hipoaldosteronismo), lo que provoca poca reabsorción de ion sodio en el riñón y poca excreción de ion potasio en la orina. Ello lleva consigo hiponatremia e hipertotasemia. También lleva consigo la aparición de acidosis metabólica.

Síndrome de Conn, en el que se encuentra un alto nivel de aldosterona (hiperaldosteronismo), lo que provoca una elevada reabsorción renal de ion sodio y elevada excreción de ion potasio. En estas condiciones, se produce una situación de hipernatremia y de hipopotasemia. También se origina un cuadro de alcalosis metabólica.

RESUMEN

- La hibridación sp^3 de la molécula de agua determina sus propiedades físicas y químicas, de las que la principal es su capacidad de establecer enlaces por puentes de hidrógeno.
- Es un buen termorregulador debido a sus elevados calor específico, calor de vaporización y conductividad calorífica.
- Es un disolvente casi universal. Por su elevada constante dieléctrica y capacidad de hidratación de iones disuelve los compuestos iónicos. También es un buen disolvente de sustancias polares no iónicas y anfipáticas.
- Es un electrolito débil de comportamiento anfótero. La escala de pH permite la cuantificación de la acidez y basicidad de las soluciones acuosas. La ecuación de Henderson-Hasselbalch permite conocer el estado de ionización de los ácidos y las bases débiles, grupo al que pertenecen la práctica totalidad de los ácidos y las bases implicados en los procesos bioquímicos. El mantenimiento del pH adecuado en el organismo (en torno a 7.4 en el medio extracelular) es fundamental. Para conseguirlo se utilizan las soluciones reguladoras fisiológicas, la ventilación pulmonar y la filtración renal. Una alteración de ese pH conduce a la aparición de patologías como las acidosis y alcalosis, de orígenes respiratorio y metabólico.
- Las soluciones acuosas presentan propiedades coligativas que dependen solamente del número de partículas de soluto. Una de ellas, la presión osmótica o tonicidad debe ser mantenida en equilibrio en el interior del organismo para evitar la muerte celular y transferencias patológicas de agua.
- Las soluciones coloidales son sistemas heterogéneos sin separación de fases. En ellas, el tamaño de la partícula de soluto es intermedio entre el de las suspensiones y el de las verdaderas soluciones. El efecto Tyndall, el movimiento browniano y el efecto Gibbs-Donnan son propiedades características de estas soluciones coloidales. La presión osmótica ejercida por las soluciones coloidales se denomina presión oncótica. Las soluciones de macromoléculas biológicas se comportan como soluciones coloidales. La diálisis consiste en la separación de moléculas de una solución, en función de su tamaño, al encontrarse en contacto con una membrana de tamaño de poro selectivo. La purificación de soluciones de macromoléculas y la hemodiálisis son dos de sus principales aplicaciones.
- Los líquidos y tejidos corporales presentan un contenido en iones característico y constante para cada estructura. El plasma y el líquido intersticial tienen composiciones muy similares, mientras que la composición del líquido intracelular es muy diferente. Hay iones típicamente extracelulares, como sodio y cloruro; otros son de localización mayoritariamente intracelular, como potasio y fosfato. Las variaciones en la concentración adecuada de estos iones conducen a la aparición de alteraciones patológicas. La enfermedad de Addison y el síndrome de Conn constituyen dos ejemplos de desequilibrio en las concentraciones de sodio y potasio.

EVALUACIÓN

1. (B). Respecto a la estructura molecular del agua:
 1. El oxígeno presenta hibridaciones sp^3 .
 2. El ángulo H—O—H es de 90° .
 3. En estado sólido, cada molécula de agua posee capacidad para formar cuatro enlaces de hidrógeno.
 4. En cada extremo de una molécula de agua existe una carga neta positiva y otra carga neta negativa, respectivamente, lo que le confiere la propiedad de dipolo eléctrico.

a b c d e

2. (B). Propiedades del agua:
 1. Su temperatura de ebullición es similar a la del H_2S .
 2. Su bajo calor específico es la causa que permite al organismo realizar importantes cambios de calor con escasa modificación de la temperatura corporal.
 3. Su bajo calor de vaporización es el que permite la eliminación corporal de grandes cantidades de calor, mediante la salida del cuerpo del agua en forma gaseosa.
 4. Al no poseer cargas eléctricas netas, su molécula no puede interaccionar con los iones circundantes.

a b c d e

3. (A). Agua como disolvente y como electrólito:
 - a. Disuelve compuestos iónicos.
 - b. Puede disolver a compuestos polares de naturaleza no iónica.
 - c. Mediante la formación de micelas puede disolver a moléculas anfipáticas.
 - d. La formación de enlaces de hidrógeno ayuda a solubilizar a alcoholes, aminas y aminoácidos.
 - e. Todo lo anterior es cierto.

4. (A). El líquido corporal de pH más bajo, entre los indicados, es:
 - a. El suero.
 - b. Las lágrimas.
 - c. La secreción gástrica.
 - d. La secreción pancreática.
 - e. La orina.

5. (A). El sistema regulador fisiológico extracelular más importante es:
 - a. Amortiguador fosfato.
 - b. Amortiguador bicarbonato.
 - c. Proteínas.
 - d. Hemoglobina.
 - e. Acetato.

6. (A). La acidosis metabólica puede originarse por:
 - a. Una hiperventilación pulmonar.
 - b. La ingesta de grandes cantidades de bicarbonato sódico.

7. (C). Una disolución 1 M de NaCl y otra disolución 1 M de glucosa presentarán las mismas propiedades coligativas PORQUE, debido a la naturaleza de los solutos, ambas deben considerarse como disoluciones moleculares.

a b c d e

8. (B). Entre las propiedades coligativas se encuentran:
 1. Descenso crioscópico.
 2. Ascenso ebulloscópico.
 3. Descenso de la presión de vapor.
 4. Presión osmótica.

a b c d e

9. (A). Disoluciones coloidales:
 - a. Son sistemas homogéneos sin separación de fases.
 - b. El tamaño de las partículas de soluto es superior al de las suspensiones.
 - c. El efecto Tyndall y el movimiento browniano son algunas de sus propiedades.
 - d. Un ejemplo adecuado de este tipo de disoluciones es el de la sacarosa.
 - e. Nada de lo anterior es cierto.

10. (B). Se podrían considerar disoluciones coloidales las correspondientes a:
 1. Proteínas.
 2. Ácidos nucleicos.
 3. Polisacáridos.
 4. Fructosa.

a b c d e

11. (C). La concentración intraeritrocitaria de cloruro es aproximadamente el 70% de la plasmática PORQUE cuando el cloruro penetra en el eritrocito una parte se metaboliza y se elimina.

a b c d e

12. (B). Presión oncótica:
 1. Se la conoce también como presión osmótico-coloidal o coloidosmótica.
 2. Engloba la presión osmótica que ejerce una disolución coloidal.
 3. El efecto Gibbs-Donnan es un factor que puede afectar a su magnitud.
 4. La atracción de agua por las partículas coloidales puede afectar también su cuantía.

a b c d e

EVALUACIÓN (continuación)

13. (A). Distribución iónica corporal. Es FALSO que:
- a. Las tonicidades respectivas del plasma, el líquido intersticial y el líquido intracelular son muy parecidas.
 - b. El plasma y el líquido intersticial tienen un contenido iónico muy similar, tanto cualitativa como cuantitativamente.
 - c. El sodio se sitúa, con preferencia, extracelularmente, mientras que el potasio lo hace intracelularmente.
 - d. El cloruro es un ion típicamente intracelular.
 - e. El efecto Gibbs-Donnan es uno de los factores que contribuyen a las diferencias existentes entre el contenido iónico intracelular y extracelular.
14. (C). En el síndrome de Conn se produce una situación patológica de hipernatremia e hipopotasemia PORQUE existe una excesiva producción de aldosterona, que facilita la reabsorción de sodio.
- a b c d e
15. (C). El hipoaldosteronismo característico en la enfermedad de Addison se produce PORQUE en tales circunstancias se da una elevada excreción de ion potasio por la orina.
- a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Chaplin MF: Water: its importance to life. *Biochem Mol Biol Educ* 2001; 29: 54-59.
- Curtright R, Emry R, Heaton RM *et al*: Facilitating Student Understanding of Buffering by an Integration of Mathematics and Chemical Concepts. *Biochem Mol Biol Educ* 2004; 32: 71-77.
- Fochi G: El pH. Devaneos filológicos. *Inv y C* 2001; enero: 27-28.
- Gerstein M, Levitt M: El agua y las moléculas de la vida. *Inv y C* 1999; enero: 58-63.
- Mattos C: Protein–water interactions in a dynamic world. *TiBS* 2002; 27: 203-208.
- Zeuthen T: How water molecules pass through aquaporins. *TiBS* 2001; 26: 77-79.

LAS REGLAS: METABOLISMO Y BIOENERGÉTICA

De una forma que parece contradecir al segundo principio de la Termodinámica, la materia viva es capaz de mantenerse, crecer y formar estructuras de más complejidad. La contradicción surge porque en el estudio de la materia viva no tratamos con sistemas cerrados, sino abiertos, con intercambio continuo de materia y energía con el medio externo, que tiene lugar mediante continuas transformaciones de las biomoléculas, cuyo conjunto denominamos *metabolismo*. El metabolismo se integra en vías metabólicas muy reguladas, cuyos pasos individuales se encuentran catalizados muy eficazmente por las correspondientes enzimas. En este capítulo intentaremos realizar una aproximación, intuitiva, a las grandes reglas bioenergéticas que rigen el metabolismo.

4.1 PROCESOS METABÓLICOS

De acuerdo con sus características, los procesos metabólicos se pueden clasificar como:

1. *Catabólicos* (degradativos). Son convergentes, partiendo de un número amplio de macromoléculas, que se degradan hasta un número inferior de unidades menores constituyentes que, a su vez, se transforman en otro número más reducido de intermedios metabólicos, que continúan la degradación hasta llegar a un destino único, una fracción de dos átomos de carbono, acetato (acetilCoA [acetil coenzima A], en su forma activa), finalizando, en condiciones aerobias, con su oxidación total hasta dióxido de carbono y agua, a través del ciclo del ácido cítrico y de la cadena respiratoria. Los procesos catabólicos son liberadores de energía.
2. *Anabólicos* (constructivos). Siguen caminos divergentes, utilizando usualmente vías diferenciadas de las catabólicas, lo que favorece la regulación metabólica. Necesitan aporte energético.
3. *Anfibólicos*. Se denominan así si se trata de interconversiones entre intermedios metabólicos situados en el comienzo de las vías anabólicas, o al final de algunas catabólicas.

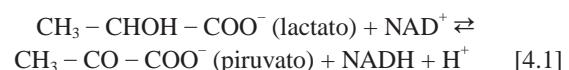
En el catabolismo, se libera energía convertible en ATP (trifosfato de adenosina), directamente o a partir de NADH (dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido) y otros cofactores reducidos (véase el Cap. 13). Para que las vías anabólicas operen, necesitan energía, procedente de la hidrólisis del ATP o de la oxidación de coenzimas reducidas.

4.1.1 Termodinámica y procesos bioquímicos

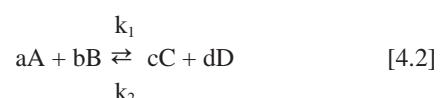
Los seres vivos y sus procesos metabólicos cumplen las leyes de la física y de la química, y están sometidos a los principios de la *Termodinámica*, o a su expresión biológica, la *bioenergética*. La termodinámica clásica estudia la evolución de los sistemas, desde una posición inicial hasta que alcanzan el equilibrio, pudiendo predecir las transformaciones que tendrán lugar y cuantificando las correspondientes variaciones de las magnitudes termodinámicas que acompañan a la transformación.

Sin embargo, en los sistemas vivos nunca se alcanza un equilibrio estático, sino, en todo caso, dinámico, aunque las concentraciones de los intermedios sean constantes a lo largo del tiempo, ya que las transformaciones consideradas (en una vía metabólica, espacio intracelular, célula, órgano, tejido o individuo) siempre van acompañadas de intercambios de materia y energía con el exterior. Pero, aunque el análisis termodinámico clásico no sea exactamente extrapolable a los sistemas vivos, puede servirnos de guía para conocer cómo transcurrirá un proceso *in vitro*, o para aproximarlos a su evolución *in vivo*.

Lo anteriormente expuesto se puede ilustrar con el ejemplo de la interconversión de lactato y piruvato, reacción catalizada por la enzima *lactato deshidrogenasa*:



que es un caso particular de la expresión general:



Una aproximación termodinámica clásica trata de:

1. Predecir lo que ocurrirá espontáneamente, hasta llegar al equilibrio, partiendo de unas concentraciones iniciales de las especies participantes.
2. Cuantificar los cambios energéticos habidos desde la situación inicial a la de equilibrio.

Recordemos, antes de definir las relaciones termodinámicas, que, en función de las concentraciones existentes en cada momento, las velocidades de transformación en los dos sentidos vienen dadas, respectivamente, por:

$$v_1 = k_1 \cdot [A]^a \cdot [B]^b$$

y, por:

$$v_2 = k_2 \cdot [C]^c \cdot [D]^d \quad [4.3]$$

Cuando se alcanza el equilibrio, $v_1 = v_2$, lo que permite definir una *constante de equilibrio* K_{eq} , en función de las concentraciones existentes en la situación de equilibrio:

$$K_{eq} = \frac{[C]^c \cdot [D]^d}{[A]^a \cdot [B]^b} \quad [4.4]$$

Por otra parte, el *primer principio de la Termodinámica*, expresado de forma simplificada, nos dice que la energía no se crea ni se destruye, sólo se transforma. Por tanto, si se considera la energía interna inicial y la final (en el equilibrio) de los componentes de un sistema, la variación de la *energía interna* (ΔU) equivaldrá a la suma de las variaciones de las energías en forma de calor y de trabajo:

$$\Delta U = \Delta \text{Calor} + \Delta \text{Trabajo} \quad [4.5]$$

En las condiciones normales de las reacciones bioquímicas, a presión atmosférica, el intercambio calorífico se denomina *cambio de entalpía* (ΔH). Si este cambio es negativo, la transformación es *exotérmica*, y si es positivo, *endotérmica*.

Si pensamos en diversas clases de energía, como la potencial del agua en un salto hidráulico, la eléctrica de una resistencia o el calor que fluye desde un cuerpo más caliente a otro más frío, la magnitud energía se puede expresar como el producto de un factor de intensidad (altura del salto de agua, diferencia de potencial eléctrico, diferencia de temperatura) por un factor de capacidad (en los dos primeros ejemplos, masa de agua y carga eléctrica, respectivamente). En los cambios energéticos entálpicos, este factor de capacidad se denomina *entropía*, S . Sus variaciones son los *cambios de entropía*, ΔS , cuyas unidades se corresponderán a las de energía/K.

El *segundo principio de la Termodinámica*, también enunciado de modo simplificado, establece que una transformación se produce espontáneamente si, globalmente, tiene lugar un incremento global de entropía en el universo, es decir si:

$$T \cdot \Delta S (\text{sistema}) + T \cdot \Delta S (\text{medio}) > 0 \quad [4.6]$$

La expresión anterior es convertible en otra en la que sólo aparecen parámetros del sistema:

$$T \cdot \Delta S (\text{sistema}) - \Delta H (\text{sistema}) > 0 \quad [4.7]$$

Si definimos $\Delta H (\text{sistema}) - T \cdot \Delta S (\text{sistema}) = \Delta G (\text{sistema})$, ello equivale a decir que un proceso se realizará espontáneamente en un sentido, si ΔG es negativo en ese sentido.

A ΔG se le denomina *cambio de energía libre de Gibbs*. Valores negativos corresponden a transformaciones *exergónicas*; los positivos, a *endergónicas*. Si su valor es cero, no existe cambio energético, la situación es de equilibrio. Como las transformaciones espontáneas son las exergónicas, la predicción del sentido de una transformación y la cuantía energética de la misma quedan reducidas, pues, al cálculo de ΔG .

4.1.2 La espontaneidad termodinámica

Como ejemplo de lo expuesto, volviendo a la reacción [4.1], si de los cálculos realizados a partir de unas concentraciones iniciales de las especies participantes se dedujese que ΔG es negativo, ello significaría que para alcanzar el equilibrio, el lactato se tendría que convertir en piruvato con la correspondiente reducción de NAD^+ (dinucleótido de nicotinamida y ademina oxidado) a NADH . Si $\Delta G = 0$, las condiciones iniciales son ya las del equilibrio. Si ΔG fuera positivo, el sentido espontáneo de la transformación para alcanzar el equilibrio sería el de la conversión neta de piruvato en lactato, oxidándose simultáneamente la forma reducida de la coenzima.

El cambio de energía libre de una transformación, desde una situación inicial a la de equilibrio, se puede calcular mediante la *ecuación de Gibbs*:

$$\Delta G = \Delta G'_o + R \cdot T \cdot \ln \frac{[C]^c \cdot [D]^d}{[A]^a \cdot [B]^b} \quad [4.8]$$

donde $[A]$, $[B]$, $[C]$ y $[D]$ son las concentraciones iniciales de las especies presentes, T es la temperatura en ° Kelvin, $R = 8.3 \text{ J/mol} \cdot \text{°K}$ y $\Delta G'_o$ es el cambio de energía libre estándar del proceso, corregida a pH 7.0, fisiológico, una constante característica para cada transformación. Si en el proceso participan protones (caso de la reacción [4.1]), ello implicaría que los valores de $\Delta G'_o$ y de ΔG deben estar referidos a pH 7.

Fácilmente, desde la expresión [4.8] se puede deducir la siguiente relación entre $\Delta G'_o$ y K_{eq} (también, a pH 7):

$$\Delta G'_o = -RT \cdot \ln K_{eq} \quad [4.9]$$

En unas condiciones hipotéticas iniciales de pH 7 en las que todos los participantes tuviesen una concentración unidad (condición estándar) se cumpliría que $\Delta G'_o = \Delta G_o'$, es decir, el valor del cambio de energía libre estándar predice la espontaneidad y establece la cuantía de la transformación energética que tendría lugar partiendo de concentraciones estándares iniciales. En cualquier caso, la ecuación [4.8] permite deducir el sentido espontáneo de una reacción, siempre que conozcamos las concentraciones iniciales y el valor de $\Delta G'_o$ o el de K_{eq} . En el ejemplo de la reacción [4.1] catalizada por lactato deshidrogenasa, en que $K_{eq} = 3.9 \cdot 10^{-5}$, ello significa que a pH 7.0 y 25 °C, $\Delta G'_o = +25.1$ kJ/mol, con el equilibrio desplazado hacia el lactato. Si hubiésemos partido de valores iniciales de $[lactato] = 10^{-3}$ M, $[piruvato] = 10^{-5}$ M, $[NAD^+] = 10^{-5}$ M y $[NADH] = 10^{-5}$ M, el cálculo correspondiente (ecuación [4.8]) a 37 °C nos proporciona un $\Delta G = +13.7$ kJ/mol, una transformación también endergónica que, para alcanzar el equilibrio, convertirá el piruvato en lactato. Pero si hubiésemos partido de unos valores iniciales de $[lactato] = 10^{-6}$ M, $[piruvato] = 10^{-6}$ M, $[NAD^+] = 10^{-3}$ M y $[NADH] = 10^{-6}$ M, entonces ΔG sería negativo, lo que significaría un proceso exergónico, que para alcanzar el equilibrio transformará lactato a piruvato.

Todo lo expuesto indica que, en condiciones adecuadas, cualquier transformación debe considerarse reversible, ya que, sea cual sea el valor de su $\Delta G'_o$, modificando las concentraciones iniciales de los reaccionantes puede llegarse a un ΔG negativo o a un ΔG positivo. Sin embargo, cuando los valores absolutos de $\Delta G'_o$ son muy elevados, el equilibrio en las condiciones estándares está muy desplazado en uno de los sentidos, por lo que para describir la reacción utilizaremos una flecha unidireccional, en lugar de la flecha bidireccional de los procesos más reversibles. Por ejemplo, en la ecuación [4.9], si se parte de un valor $\Delta G'_o = -51$ kJ/mol, ello significaría que $K_{eq} = 10^9$, lo que indica un gran desplazamiento del equilibrio hacia la derecha de la expresión de la reacción, es decir, una práctica irreversibilidad del proceso.

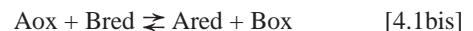
En cuanto a las transformaciones metabólicas en las que intervienen sistemas redox se caracterizan por su potencial redox E_o' , con un valor cuya referencia es la del electrodo normal de hidrógeno. En bioquímica, el valor se corrige a pH 7.0 : E_o' . El cálculo del potencial de un sistema, en condiciones distintas a las estándares o normales, se realiza con la ecuación de Nernst:

$$E = E_o' - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[Red]}{[Ox]} \quad \text{o bien,}$$

$$E = E_o' - \frac{0.06}{n} \ln \frac{[Red]}{[Ox]} \quad [4.10]$$

donde [Red] y [Ox] son las concentraciones respectivas de las formas reducidas y oxidadas consideradas, R = 8.37 J/mol.°K, F = 96 500 culombios y n es el número de electrones implicados.

Una reacción redox bioquímica, como la del ejemplo [4.1] se puede expresar también como:



En el sentido de la escritura, un sistema actúa como oxidante y el otro como reductor, cumpliéndose que:

$$\Delta E = E_{oxidante} - E_{reductor} = \Delta E_o' \text{ (oxidante - reductor)} -$$

$$-\frac{0.06}{n} \log \frac{[Ared] \cdot [Box]}{[Aox] \cdot [Bred]} \quad [4.11]$$

Fácilmente se puede deducir que las relaciones bioenergéticas entre potenciales y cambios de energía libre son las siguientes:

$$\Delta G'_o = -n \cdot F \cdot \Delta E_o', \text{ así como } \Delta G = -n \cdot F \cdot \Delta E \quad [4.12]$$

Por tanto, volviendo al ejemplo [4.1], teniendo en cuenta los valores de los potenciales redox estándares E_o' ($NADH/NAD^+ = -0.32$ v y E_o' (lactato/piruvato) = -0.19 v (Tabla 4-1), y utilizando las expresiones de las ecuaciones [4.11] y [4.12] para los dos supuestos de concentraciones iniciales antes indicados, se pueden calcular los valores correspondientes de los cambios de energía libre, que son coincidentes con los calculados partiendo del conocimiento de K_{eq} (Tabla 4-1).

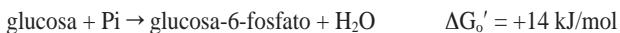
En resumen, conociendo el cambio de energía libre estándar de un proceso (valor deducible de la constante de equilibrio o, en su caso, de los potenciales normales de los sistemas participantes) se puede predecir, a pH 7.0, a partir de condiciones iniciales estándares de tales participantes, el sentido de la evolución espontánea del proceso. Y si conocemos las concentraciones iniciales de los metabolitos presentes, se puede calcular fácilmente la cuantía y el signo del cambio de energía libre, mediante los procedimientos descritos, estando siempre ligados espontaneidad y exergonidad.

Tabla 4-1. Potenciales redox estándares de algunos sistemas bioquímicos

Sistema (oxidado/reducido)	E_o' (voltios)
Acetato + CO ₂ /piruvato	-0.70
Acetato/acetaldehído + OH ⁻	-0.60
3-fosfoglicerato/gliceraldehído-3-fosfato+OH ⁻	-0.55
H ⁺ /1/2 H ₂	-0.42
α -cetoglutarato + CO ₂ + 2H ⁺ /isocitrato	-0.38
Piruvato + CO ₂ /malato	-0.33
NAD(P)+/NAD(P)H + H ⁺	-0.32
FAD/FADH ₂ (dinucleótido de flavina y adenina oxidado/reducido)	-0.22
Acetaldehído/etanol	-0.20
Piruvato/lactato	-0.19
Oxalacetato/malato	-0.17
Fumarato/succinato	+0.03
Citocromo b oxidado/reducido	+0.07
Ubiquinona/ubiquinol	+0.10
Citocromo c oxidado/reducido	+0.25
O ₂ /H ₂ O	+0.82

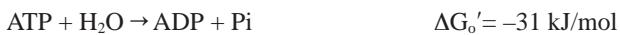
4.2 SISTEMAS ENERGÉTICAMENTE ACOPLADOS

Una reacción endergónica, desde el punto de vista termodinámico imposible de realizar por sí misma espontáneamente, puede llevarse a cabo, sin embargo, si se acopla a otra exergónica, siempre que el resultado final sea exergónico. Si consideramos la reacción:



el cambio de energía libre positivo significa que, espontáneamente, en condiciones estándares, transcurre en el sentido de la hidrólisis. La enzima catalizadora es *glucosa-6-fosfatasa*.

Por otra parte, la hidrólisis exergónica del ATP, catalizada por *ATPasa*, se expresa:



Si los dos procesos, uno endergónico y otro exergónico, se suman, el resultado final es:



El resultado final del acoplamiento es que bioenergéticamente está favorecida la fosforilación de la glucosa. Para que ocurra, aparte de la posibilidad termodinámica, se necesita la participación de un catalizador específico para la reacción global acoplada, en este caso una enzima *hexoquinasa* (véase el Cap. 14).

La posibilidad de acoplamientos no se restringe a dos reacciones, sino que puede ser más compleja, por lo que en los seres vivos son posibles muchas fases metabólicas endergónicas, siempre que se encuentren acopladas o encuadradas en vías globalmente exergónicas.

4.2.1 Compuestos ricos en energía de hidrólisis

En las transformaciones exergónicas, una parte de la energía liberada puede quedar almacenada y disponible en forma de energía química, expresable a través de los denominados *compuestos ricos en energía de hidrólisis*, que poseen enlaces muy inestables en disolución acuosa. La energía química almacenada por estos compuestos es liberada en su hidrólisis, tal como hemos visto en el apartado anterior con el ATP, posibilitando gran número de acoplamientos energéticos.

Entre los compuestos ricos en energía de hidrólisis de mayor interés fisiológico se encuentran: anhídridos del ácido fosfórico (ATP), ésteres fosfóricos de enoles (fosfoenolpiruvato), acilfosfatos (R-COO-P) y aciltioésteres (acilCoA). El caso más usual, por lo que es conocido como la *moneda energética* de los procesos biológicos, es el del ATP, cuya energía libre de hidrólisis en condiciones estándares y de exceso de magnesio es de -31 kJ/mol, cuando se hidroliza a ADP (difosfato de adenosina y fosfato). Además de esta escisión, el ATP puede utilizarse de otros modos, por ejemplo, hidrolizándose hasta AMP (monofosfato de adenosina) y pirofosfato (Recuadro 4-1).

La alta energía de hidrólisis, es decir, la inestabilidad en disolución, puede deberse a causas como:

1. Impedimentos estéricos de las moléculas en disolución; por ejemplo, acumulación de muchos átomos de oxígeno en un espacio reducido.
2. Desestabilización debida a la existencia próxima de cargas del mismo signo; por ejemplo, ionizaciones de ácidos.
3. Mayor número de formas resonantes en los productos de hidrólisis que en los de partida.

Recuadro 4-1.

CARGA ENERGÉTICA

Al igual que el ATP, el ADP puede hidrolizarse, con un rendimiento energético similar, produciendo fosfato y AMP (que es bastante estable). Por

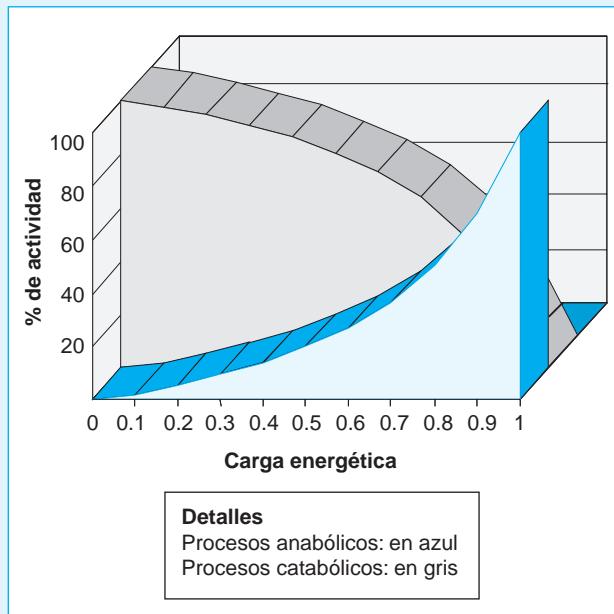
ello, la capacidad energética del ATP se puede considerar doble que la del ADP. La mayor parte de los compuestos de alta energía de hidrólisis de las células corresponde a los de tipo adenílico (ATP y ADP), no exportables de unas células a otras, lo que significa,

$$\text{Carga energética} = \frac{[\text{ATP}] + \frac{1}{2} [\text{ADP}]}{[\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}]} \quad [4.13]$$

La capacidad energética afecta de modo fundamental (Fig. 4-1) al metabolismo energético celular, pues regula las velocidades de las rutas exergónicas y endergónicas, ya que

enzimas muy importantes de las principales vías metabólicas pueden ser reguladas por los cambios en las concentraciones de ATP, ADP o AMP. Un valor normal de carga energética

que la capacidad energética celular dependerá de las proporciones de las formas ATP/ADP/AMP. El estado energético global de una célula se puede expresar en función de su llamada *carga energética*, definida como:



podría ser 0.85. Las cargas energéticas elevadas favorecen las vías anabólicas, mientras que las cargas energéticas bajas estimulan las vías catabólicas.

RESUMEN

- El metabolismo constituye el conjunto de las vías metabólicas muy reguladas que permiten que se realicen las transformaciones propias de la materia viva.
- Los procesos metabólicos obedecen las leyes fisicoquímicas y se someten a los principios de la Termodinámica.
- Las peculiaridades de la materia viva (sistemas no en equilibrio estacionario) no se corresponden a las características usuales de los sistemas termodinámicos clásicos.
- Entre los diversos conceptos termodinámicos, como entalpía, energía libre y entropía, el signo y cuantía del cambio de energía libre permite que podamos predecir teóricamente el curso de una transformación, que tendrá lugar si existen las enzimas catalizadoras de la misma.
- La ecuación de Gibbs, adaptada a las peculiaridades de los sistemas vivos, nos posibilita conocer el valor del cambio de energía libre de un proceso.
- La combinación de la ecuación de Nernst y de Gibbs es muy útil para el caso de que los sistemas participantes sean de tipo redox.
- El acoplamiento termodinámico de procesos exergónicos con endergónicos, junto con la existencia de las enzimas correspondientes a cada paso, permite la operacionalidad de las vías metabólicas, superando barreras energéticas puntuales, siempre que el balance final sea exergónico.
- Los compuestos de alta energía de hidrólisis constituyen el modo más directo de aporte energético para permitir los acoplamientos energéticos. Aparte del ATP, el de más interés fisiológico, nos encontramos con otros ejemplos como ésteres fosfóricos de enoles (fosfoenolpiruvato), acilfosfatos y aciltioésteres (acilCoA).
- El concepto simplista de carga energética puede facilitarnos una primera aproximación de la situación energética celular. A lo largo del metabolismo se encontrarán numerosos ejemplos de cómo los efectores energéticos, como ATP y AMP regulan las vías anabólicas y catabólicas para conseguir el adecuado equilibrio energético.

EVALUACIÓN

1. (B). Consideraciones metabólicas:

- El anabolismo está constituido por las vías metabólicas de síntesis.
- En los procesos anabólicos se suele liberar energía.
- La transformación de glucosa hasta piruvato constituye un ejemplo de vía catabólica.
- Son términos sinónimos los de metabolismo intermedio y metabolismo basal.

a b c d e

2. (A). Conceptos metabólicos:

- Un proceso catabólico suele requerir energía.
- Los procesos catabólicos suelen ser de naturaleza divergente.
- Las vías catabólicas son sinónimas de vías de degradación.
- Los procesos catabólicos suelen ser idénticos, pero en diferente sentido que los anabólicos.
- Todo lo anterior es cierto.

3. (C). Un proceso metabólico es siempre anfibólico PORQUE este término hace referencia a que evolutivamente, los animales anfibios fueron las primeras formas de vida existentes.

a b c d e

4. (B). Para que una transformación metabólica pueda ocurrir espontáneamente:

- Su cambio de entropía ha de ser positivo.
- Ha de ser exotérmica.
- Hay que suministrarle energía de origen externo.
- Inicialmente ha de estar en situación de equilibrio.

a b c d e

5. (C). La reacción glucosa + Pi → glucosa-6-fosfato ($\Delta G'_o = +14\text{KJ/mol}$) puede acoplarse metabólicamente a la reacción fosfoenolpiruvato → piruvato + Pi ($\Delta G'_o = -62\text{ KJ/mol}$) PORQUE el segundo proceso es más exergónico que endergónico es el primero.

a b c d e

6. (B). Bioenergética:

- La primera ley de la Termodinámica establece que el calor siempre se convierte totalmente en trabajo.
- La hidrólisis del ATP se favorece con la disminución del pH.
- Bioquímicamente, un sistema es más reductor si su E'_o es mayor.
- Todas las transformaciones metabólicas son exergónicas.

a b c d e

7. (A). Los sistemas redox oxalacetato/malato y NAD⁺/NADH + H⁺, poseen unos potenciales estándares redox de -0.17 v y -0.32 v , respectivamente. En condiciones estándares, en presencia de malato deshidrogenasa, se cumplirá que:

- El oxalacetato oxida a NADH.
- La NAD⁺ oxida al malato.
- Se está en situación de equilibrio.
- Nunca podrá alcanzarse el equilibrio.
- No se realizará ninguna oxidación/reducción.

8. (A). El valor E'_o del sistema ácido dehidroascórbico/ác. ascórbico es 0.08 v y el de glutatión oxidado/reducido es -0.23 v . En condiciones intracelulares, con las enzimas adecuadas, y con concentraciones iguales de los cuatro componentes, ocurrirá que:

- El glutatión se oxida y el ácido dehidroascórbico se reduce.
- El glutatión se reduce y el ácido ascórbico se oxida.
- No hay ninguna transformación.
- Tanto el glutatión como el ácido ascórbico se oxidan.
- Tanto el glutatión como el ácido ascórbico se reducen.

9. (A). La reacción $\text{XH}_2 + \text{NAD}^+ \rightleftharpoons \text{NADH} + \text{H}^+ + \text{X}$ posee un $\Delta E'_o = +0.148$ voltios. Respecto a la variación de energía libre estándar para la reducción de X por $\text{NADH} + \text{H}^+$, será:

- Muy negativa.
- Positiva, pero menor de 6000 cal/mol.
- Positiva y mayor de 6000 cal/mol.
- $\Delta G'_o = 0$
- Nada de lo anterior es cierto.

10. (B). Un individuo, a 37°C , produce diariamente 2.2 litros de orina con un contenido 0.176M en cloruro, mientras que su cloruro plasmático es 0.11M. ¿Cuántos mmoles de ATP ha de hidrolizar diariamente para eliminar el cloruro urinario? Considerese $\Delta G'_o$ para ATP = -7463 cal/mol ; $R = 1.987\text{ cal/mol} \cdot ^\circ\text{K}$.

- Más de 5.
- Menos de 20.
- Más de 10.
- Entre 15 y 20.

a b c d e

11. (B). Suponiendo $R = 2\text{ cal/mol} \cdot ^\circ\text{K}$, $\ln N = 2.3 \cdot \log N$ y que a 37°C y pH 7.0 $\Delta G'_o$ para la hidrólisis del ATP sea -8000 cal/mol , si todas las circunstancias permaneciesen constantes, excepto el pH, se cumpliría que ΔG :

- Será más negativo a pH inferior.
- A pH 1.0 valdrá $+556\text{ cal/mol}$.
- Será el mismo, independientemente del pH.
- A pH 8.0 valdrá -9426 cal/mol .

a b c d e

EVALUACIÓN (continuación)

12. (A). Los siguientes compuestos poseen una elevada energía de hidrólisis en algunos de sus enlaces: ATP (A), fosfoenolpiruvato (F), glucosa-6-fosfato (G). El orden creciente de la energía liberable será:
- a. A, F, G.
 - b. A, G, F.
 - c. F, A, G.
 - d. F, G, A.
 - e. G, A, F.
13. (C). En una situación intracelular de concentraciones de ATP = 3.5 mM; ADP = 1mM y AMP = 0.5 mM, existirá un claro predominio de rutas catabólicas sobre las anabólicas PORQUE en esa situación la carga energética es inferior a 0.5.
- a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Bentley R, Franzen J, Chasteen TG: Oxidation Numbers in the Study of Metabolism. *Biochem Mol Biol Educ* 2002; 30: 288-292.
- De Cuorsey TE, Cherny VV: Common themes and problems of bioenergetics and voltage-gated proton channels. *Biochem Biophys Acta* 2000; 1458: 104-109.
- Hanson RW: The role of ATP in metabolism. *Biochem Mol Biol Educ* 1989; 17: 86-92.
- Jencks WP: How does ATP make work? *Chemtracts-Biochem Mol Biol* 1990; 1: 1-13.
- Kurganov BI: The concept of biochemical organization. *TiBS* 1993; 18: 405-406.
- Westheimer FH: Why nature chose phosphates? *Science* 1987; 235: 1173-1178.

SECCIÓN II

ESTRUCTURAS Y FUNCIONES DE LAS BIOMOLÉCULAS

Capítulo 5: Hidratos de carbono

Capítulo 6: Lípidos

Capítulo 7: Aminoácidos y proteínas

Capítulo 8: Ácidos nucleicos

Capítulo 9: Enzimas

Capítulo 10: Membranas biológicas

HIDRATOS DE CARBONO

5

5.1 CONCEPTO Y PROPIEDADES GENERALES

Los hidratos de carbono constituyen el grupo de biomoléculas más abundante sobre la superficie terrestre, representando aproximadamente el 75% de la materia orgánica existente. Son las primeras biomoléculas que se forman a partir de la energía lumínosa por medio de la fotosíntesis, de modo que son esenciales en la homeostasis o equilibrio global del planeta. Además, son la forma más versátil y rápida de producir energía en las células.

Los hidratos de carbono se denominan también *carbohidratos, azúcares, sacáridos y glúcidos*. Todos son términos que hacen referencia a su sabor dulce, o a que poseen la composición $C_n(H_2O)_n$. Aunque tales denominaciones subsisten, no todos los glúcidos tienen sabor dulce, ni responden a tal composición.

En los animales, los hidratos de carbono son esenciales desde el punto de vista energético; muchos órganos y células del cuerpo humano, como el cerebro o los eritrocitos,

obtienen su energía principalmente de la glucosa (véase el Cap. 14). Pero sus funciones no se restringen a ser fuente de energía, sino que forman parte de muchas estructuras celulares y tisulares. Entre ellas se encuentran no sólo los ácidos nucleicos, sino muchas biomoléculas de composición compleja con funciones muy diferentes, como son las glicoproteínas, los glicolípidos (llamados glicoconjungados, véase el Cap. 15) y los proteoglicanos (véase el Cap. 34) que son esenciales para el reconocimiento, la adhesión, la unión celular específica y el sostén de la arquitectura de los animales superiores (Recuadro 5-1).

Dentro del gran desarrollo del conocimiento genómico, y al igual que existe un término general para el conjunto total de las proteínas (*proteoma*), existe otro para el subconjunto de las proteínas que reconocen los glúcidos, (*lectinoma*), y para sus componentes (*lectinas*), de modo que el prefijo *lecti* debe también asociarse a los hidratos de carbono (Recuadro 5-2). Pero en este capítulo, analizaremos antes los hidratos de carbono más simples.

Recuadro 5-1. LA DETERMINACIÓN DE GLÚCIDOS EN BIOQUÍMICA CLÍNICA

La D-glucosa es el nutriente esencial de las células animales y casi el único en algunos tejidos. Es capaz de proporcionar energía, incluso en condiciones anaerobias (véase el Cap. 14). Sus niveles en sangre y orina son dos de los parámetros más medidos en bioquímica clínica, y de los más importantes para fines diagnósticos, dietéticos y terapéuticos. El nivel de glucemia en ayunas se mantiene relativamente constante entre 0.9 y 1.1 g/L, mediante una regulación hormonal muy eficaz realizada, principalmente,

por la insulina y el glucagón (véase el Cap. 17). La *diabetes mellitus* es una enfermedad que se detecta por el aumento de la glucemia, y su diagnóstico se confirma por la prueba de tolerancia a la glucosa, que consiste en medir la glucosa en ayunas y a intervalos de 30 minutos por espacio de 2 horas, después de ingerir una cierta cantidad de hidratos de carbono. El nivel de glucemia que se alcanza es más alto y duradero en diabéticos que en personas normales. Otros parámetros, como el nivel de glicosilación de la hemoglobina, son también utilizados.

A veces, es también necesaria la determinación de otros monosacáridos, cuyo nivel en sangre aumenta en deter-

minadas enfermedades hereditarias relacionadas con el metabolismo de los glúcidos, como la galactosemia, o la intolerancia a la fructosa. En todos los casos, la inmediata alteración de la dieta para evitar la ingestión de estos azúcares mitiga la patología.

Respecto a las determinaciones de glucosa y los azúcares relacionados, tanto en sangre como en orina, existen varios métodos que hacen bien uso de las propiedades químicas de los monosacáridos, principalmente, el carácter reductor del carbono anomérico, o bien, de enzimas específicas para cada uno de ellos, que dan productos que se pueden determinar mediante colorimetría en fase líquida o en tiras de papel reactivas (véase el Cap. 37).

Recuadro 5-2.**EL LECTINOMA Y EL GLICOCÓDIGO**

Las interacciones específicas entre las biomoléculas son la base de muchos procesos esenciales para la vida de la célula y la formación de tejidos y organismos. Esta especificidad se basa en mecanismos que permiten que una biomolécula reconozca y se una a otra biomolécula entre millones diferentes, de forma específica y selectiva. En esta estereoespecificidad siempre se les ha asignado a las proteínas el papel de protagonista principal (piénsese, por ejemplo, en las uniones enzima-sustrato o antígeno-anticuerpo) por el gran número de estructuras tridimensionales diferentes que se pueden conseguir en polipéptidos, combinando 20 aminoácidos. Pero la especificidad viene dada por las dos partes, por las dos moléculas que se

reconocen mutuamente, y los carbohidratos pueden dar lugar a un número de participantes mucho mayor si se tiene en cuenta el número de unidades posibles y, sobre todo, las posibilidades del enlace glicosídico respecto al peptídico en cuanto a variaciones de posición y configuración. Por ejemplo:

Número de pentapéptidos posibles con 20 aminoácidos: $20^5 = 3.2 \cdot 10^6$

Número de pentasacáridos posibles con sólo 10 hexosas: $256,000 \cdot 10^{10}$, es decir, ¡80 000 posibilidades más con sólo la mitad de unidades!

Quizás, por ello, los hidratos de carbono son muy empleados en la naturaleza para funciones de reconocimiento. Aunque su conocimiento está menos desarrollado que el de las proteínas, el progreso en los últimos años es evidente. Un ejemplo es la interacción específica entre un tipo de proteínas

(*lectinas*) y las moléculas glucídicas. Las interacciones célula-célula o la infección y la entrada de toxinas a las células, suelen responder a este mecanismo. La aglutinación de los eritrocitos debida a diferentes grupos sanguíneos, la unión de la toxina del cólera a las células intestinales o la fecundación entre gametos responden a este tipo de *glicocódigo*. La dificultad del estudio de la estructura de las glicoproteínas ha dificultado el progreso en el conocimiento del *glicocódigo*, pero el desarrollo de las técnicas de espectrometría de masas y la caracterización de *lectinas* está permitiendo su rápido avance, que hace que los glúcidos puedan dejar de ser, a corto plazo, las biomoléculas más sencillas, relacionadas sólo con el metabolismo energético y los polisacáridos estructurales, para tener papeles más estelares en el conocimiento molecular/celular.

Estructuralmente, un hidrato de carbono típico es una cadena hidrocarbonada con varios grupos alcohol (es decir, carbonos con grupos —OH unidos) y un carbono más oxidado, en forma de grupo carbonilo (también llamado ceto, C=O). Este grupo oxidado puede situarse en el extremo de la cadena (aldehídos), o adyacente, en posición 2 (cetonas). A partir de esta estructura básica, existen otros hidratos de carbono con alguna modificación química. La estructura de los hidratos de carbono está muy relacionada con sus funciones biológicas y con su facilidad para formar enlaces éster y éter entre sí o con grupos como el fosfato. Tales funciones son:

1. Fuente inmediata de energía para la inmensa mayoría de las células.
2. Precursores, para formar otras biomoléculas, en las rutas anapleróticas.
3. Reserva energética en tejidos, como el hígado y los músculos.
4. Papel estructural en otros tejidos, como el conjuntivo.

5.2 CLASIFICACIÓN

Los hidratos de carbono, incluso sin conjugarse con otras biomoléculas, presentan tamaños moleculares muy diferentes. En función de ello, se clasifican en monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos.

Los *monosacáridos* contienen de 3 a 8 átomos de carbono. Son las unidades básicas y no pueden hidrolizarse para dar azúcares más sencillos.

Los *oligosacáridos* son compuestos formados por uniones de algunos monosacáridos. Los más importantes tienen sólo 2 unidades y se llaman *disacáridos*. A partir de ahí, los *trisacáridos* y sucesivos son poco abundantes, y su importancia en el metabolismo animal es muy escasa.

Los *polisacáridos* están constituidos por un alto número de unidades de monosacáridos, que puede superar el millar. Son largas cadenas lineales o ramificadas, dependiendo del tipo de unión entre las unidades. Se dividen en *homopolisacáridos* y *heteropolisacáridos*, según que estén formados por el mismo tipo de monosacárido o por varios diferentes.

5.3 MONOSACÁRIDOS

Los monosacáridos se pueden clasificar, a su vez, según tres criterios:

1. Número de átomos de carbono que contienen. Se nombran con un prefijo que hace referencia a dicho número y con el sufijo -osa. Así, existen triosas, tetrosas, pentosas, hexosas, heptosas y octosas. Las más importantes son las *hexosas*, seguidas de las *pentosas*.

sas. Las heptosas se forman durante la fotosíntesis, y las tetrosas y triosas son intermedios metabólicos (véanse los Caps. 13 y 14).

2. *Naturaleza química.* Según este criterio, los que presentan el grupo carbonilo en el extremo se llaman *aldosas* (de aldehídos) y los que lo presentan en posición 2 son *cetosas* (de cetonas). En conexión con el criterio anterior, tomando como ejemplo las hexosas, existirán *aldohexosas* y *cetohexosas*. Las cetosas pueden también nombrarse con el sufijo *-ulosa*, omitiendo el prefijo *ceto-*, de modo que *hexulosa* es sinónimo de cetohexosa, pero esta denominación está en desuso.
3. *Estereoisomería*, por la presencia de carbonos asimétricos. Ello da lugar a una gran diversidad de monosacáridos. Para entender este criterio, es necesario hacer una breve introducción al concepto de estereoisomería y la actividad óptica.

5.4 ESTEREOISOMERÍA Y CLASIFICACIÓN DE LOS HIDRATOS DE CARBONO

5.4.1 Quiralidad o asimetría

Un átomo de carbono con hibridación sp^3 se denomina *asimétrico* o *quiral* si tiene 4 sustituyentes distintos unidos a sus orbitales de orientación tetraédrica (Fig. 5-1). Proyectando el tetraedro en el plano, si se permutan las posiciones de dos sustituyentes opuestos, se obtiene una molécula, que es imagen especular de la primitiva. Estos dos compuestos son *isómeros ópticos* y presentan propiedades físicas diferentes.

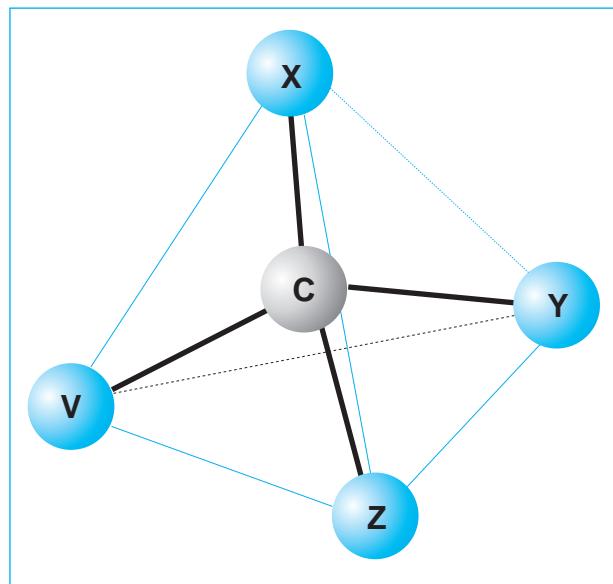


Figura 5-1. Un carbono asimétrico o quiral, con 4 sustituyentes distintos en sus posiciones tetraédricas.

El carbono asimétrico confiere a las sustancias que lo poseen actividad óptica, es decir, la propiedad de desviar el plano de la luz polarizada cuando pasa a través de una disolución de la sustancia en cuestión. La actividad óptica se cuantifica con un polarímetro, que mide el ángulo de desviación de la luz, y cumple la siguiente ley: $\alpha = [\alpha]_D \cdot l (dm) \cdot c (g/mL)$, donde α es el ángulo de desviación de la luz; $[\alpha]_D$, el poder rotatorio específico de cada sustancia (que, a su vez, depende de la fuente de luz y de la temperatura); l es la longitud de paso óptico, o anchura del recipiente de la disolución (en dm) y c , la concentración de la sustancia (en g/mL).

5.4.2 La quiralidad y su relación con monosacáridos

En el caso de los monosacáridos, el compuesto con actividad óptica más sencillo es una aldotoriosa el *gliceraldehído*. La estructura de los dos isómeros ópticos posibles y su proyección en el plano (*estructura de Fischer*) están representadas en la Figura 5-2. Para su denominación, se adopta el siguiente convenio: orientando la estructura con la disposición del carbono aldehídico en el vértice superior y el carbono 3 en el inferior, el isómero que posee el grupo hidroxilo del carbono 2 a la derecha se denomina isómero D, y el que lo tiene a la izquierda, isómero L.

Esta denominación es independiente de cual sea el sentido de rotación de la luz que se produzca experimentalmente.

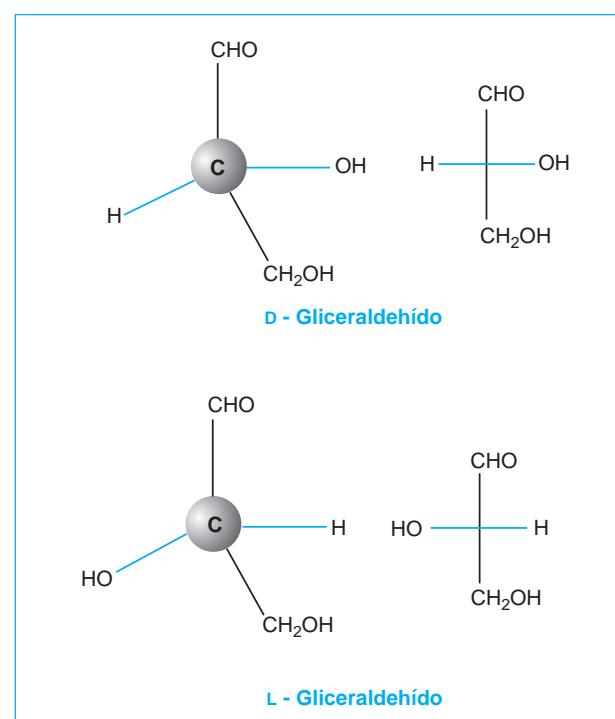


Figura 5-2. Estructura tetraédrica y la representación de Fischer en el plano del D-gliceraldehído y su estereoisómero L.

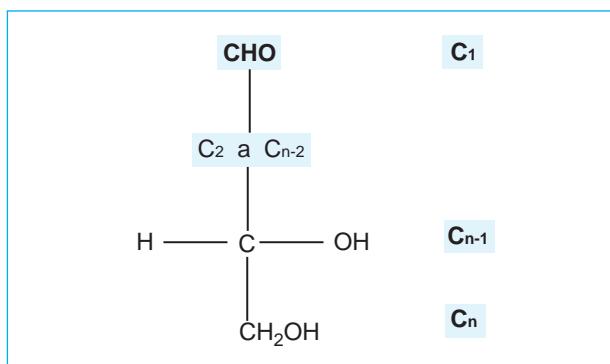


Figura 5-3. Representación de Fischer general de una D-aldosa, mostrando el C1 aldehídico y los 2 últimos carbonos. El número de carbonos en la caja central varía, desde 0 en las triosas hasta 5 en las octosas.

En el gliceraldehído, coincide que el isómero D es *dextrógiro* y el L, *levógiro*, pero en otros hidratos de carbono esto no sucede. La denominación D o L es un concepto estructural, mientras que la acción dextrógiro o levógiro es experimental. Una alternativa a la denominación D/L es la R/S, que puede consultarse en textos más avanzados de Química Orgánica.

En los monosacáridos con más carbonos que las triosas, el número de *centros quirales* aumenta y, con ello, el número de isómeros ópticos posibles. Un compuesto con n carbonos

quirales presenta 2^n isómeros ópticos. Así, existen 4, 8 y 16 aldötetrosas, aldopentosas y aldohexosas diferentes, respectivamente. Por analogía con el D-gliceraldehído, todos los que tienen el último carbono quiral (el más alejado del grupo aldehído) con el OH a la derecha se designan de la serie D (Fig. 5-3), y los que tienen ese carbono con configuración opuesta, de la serie L. La mayoría de los monosacáridos presentes en la naturaleza son de la serie D si exceptuamos el agar marino, formado por L-galactosa, y la configuración D es la que se entiende por defecto. La Tabla 5-1 presenta la posición de los carbonos asimétricos para las D-aldosas de hasta seis átomos de carbono. De ellas, la pentosa D-ribosa y las hexosas D-glucosa, D-manosa y D-galactosa son las de mayor importancia metabólica.

Dos estereoisómeros que posean todos sus carbonos asimétricos en configuración opuesta se denominan *enantiómeros* o *enantiomorfos* y tienen el mismo nombre (p. ej., D-glucosa y L-glucosa). Los estereoisómeros no enantiómeros se llaman *diastereoisómeros*. Dentro de éstos, las parejas que se diferencian sólo en la configuración de sólo un carbono asimétrico se llaman *epímeros*. Por ejemplo, la D-glucosa y la D-manosa son epímeros en el carbono 2, y la D-glucosa y la D-galactosa son epímeros en el carbono 4 (Fig. 5-4).

Respecto a las cetosas, a igual número de átomos de carbono que las aldosas, presentan un carbono asimétrico menos. Así, las cetopentosas tienen 2 átomos de carbono qui-

Tabla 5-1. Configuración de los carbonos quirales en D-aldosas con hasta 6 carbonos

Número de carbonos	Nombre de la aldosa	C2	C3	C4	C5
Triosas	D-gliceraldehído	D			
Tetrosas	D-eritrosa	d	D		
	D-treosa	i	D		
Pentosas	D-ribosa	d	d	D	
	D-arabinosa	i	d	D	
	D-xilosa	d	i	D	
	D-lixosa	i	i	D	
Hexosas	D-alosa	d	d	d	D
	D-altrosa	i	d	d	D
	D-glucosa	d	i	d	D
	D-gulosa	d	d	i	D
	D-manosa	i	i	d	D
	D-idosa	i	d	i	D
	D-galactosa	d	i	i	D
	D-talosa	i	i	i	D

D denota la configuración del último carbono quiral, el que determina la serie. Los restantes carbonos tienen el hidroxilo a la derecha (d) o la izquierda (i) en la representación de Fischer. Los enantiómeros L del mismo nombre son los que tienen la configuración contraria en todos los carbonos quirales.

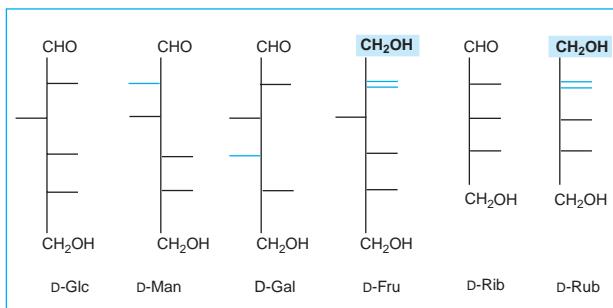


Figura 5-4. Representación de Fischer de 6 de los monosacáridos más frecuentes, 3 aldohexosas (glucosa [Glc], manosa [Man] y galactosa [Gal]), una cetohexosa (fructosa [Fru]), una aldopentosa (ribosa [Rib]) y una cetopentosa (ribulosa [Rub]). Todas son de la serie D y las diferencias respecto a la glucosa se marcan en azul.

rales y 4 estereoisómeros, y las cetohexosas tienen 3 carbonos quirales y 8 estereoisómeros posibles. Conviene mencionar la cetopentosa D-ribulosa, esencial en la fotosíntesis, y la cetohexosa D-fructosa, que salvo la obligada diferencia en los carbonos 1 y 2, tienen el resto de los carbonos con la misma configuración que la D-ribosa y la D-glucosa, respectivamente.

5.4.3 Anomería y mutarrotación. Un mayor grado de estereoisomería

La estructura de Fischer se llama también abierta, pero no es la única para estos compuestos. Cuando las pentosas y hexosas se disuelven en agua, el grupo carbonilo tiene una gran tendencia a formar un enlace, que se llama *hemiacetálico*, con el hidroxilo de uno de los carbonos más distantes de dicho grupo (generalmente, el correspondiente al último carbono asimétrico o, a veces, el del carbono terminal). Así, se produce una estructura cíclica que se denomina *furanósido* o *piranósido*, según tenga, respectivamente, 5 ó 6 átomos-vértice. La Figura 5-5 muestra las estructuras cíclicas más comunes formadas por la D-glucosa (un piranósido) y la D-fructosa (un furanósido). Las aldopentosas como la D-ribosa y las cetohexosas, como la D-fructosa también pueden formar estructuras piranósido por formación del enlace con el carbono terminal, pero son minoritarias. Estas estructuras cíclicas se denominan *estructuras de Haworth*. Por convenio, en ellas, el oxígeno hemiacetálico se encuentra en el vértice superior derecho y el grupo $-\text{CH}_2\text{OH}$ terminal, hacia arriba del plano que forma el ciclo. El resto de los grupos OH se sitúa hacia abajo o arriba del plano, según que se encuentren orientados, respectivamente, a la derecha o la izquierda en la estructura de Fischer.

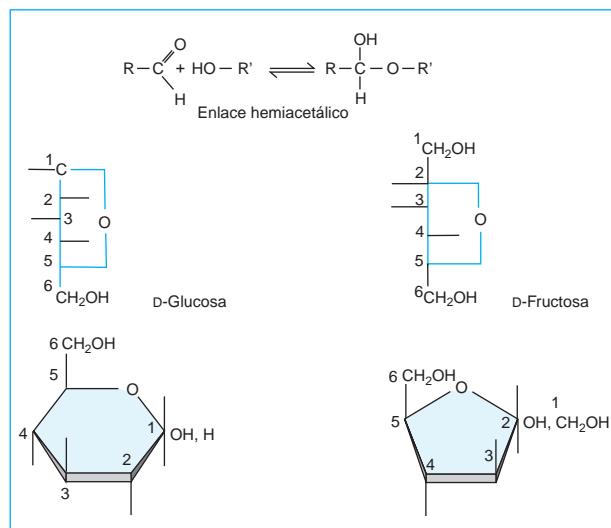


Figura 5-5. Enlace hemiacetálico para la ciclación interna de piranosas y furanosas y la equivalencia entre las representaciones de Fischer y de Haworth para la D-glucosa y D-fructosa.

Una vez formado el enlace hemiacetálico, el carbono carbonílico se transforma en un nuevo centro asimétrico, lo que crea un nuevo par de estereoisómeros para cada monosacárido. Este carbono se llama *anómero*, y los dos estereoisómeros son una pareja de *anómeros* que se designan por las letras griegas α y β , según que el nuevo grupo hidroxilo se oriente, respectivamente, hacia abajo o arriba del plano (Fig. 5-6).

Los anómeros α y β son estables cristalizados y tienen actividad óptica distintas ya que la actividad óptica de una molécula es la suma de las actividades ópticas de cada carbono quiral (p. ej., la α -D-glucosa tiene un poder rotatorio específico de 112° , mientras que la β -D-glucosa lo tiene de 19°). Sin embargo, los anómeros disueltos no son estables puesto que el enlace hemiacetálico puede romperse y reformarse, lo que permite la transformación neta de uno en otro, estableciéndose un equilibrio dinámico entre ambos (Fig. 5-6).

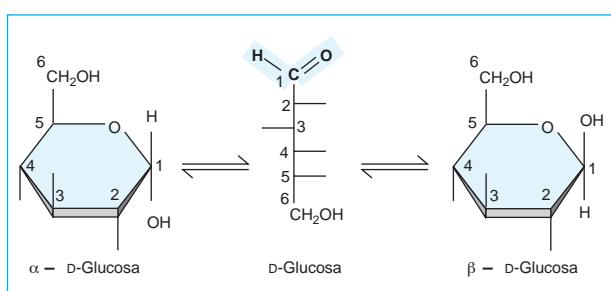


Figura 5-6. Mutarrotación entre la α -glucosa y la β -glucosa mediante el equilibrio con la forma abierta o de Fischer.

La transformación lleva consigo un cambio en el poder rotatorio de la disolución, que se llama *mutarrotación*. Cuando se llega al equilibrio o final de la mutarrotación, el porcentaje de los dos anómeros α/β no suele ser del 50%, por consideraciones estéricas que favorecen preferentemente la estabilidad de una de las formas.

5.5 DERIVADOS DE LOS MONOSACÁRIDOS

La estructura típica de los monosacáridos presenta en muchas moléculas de importancia fisiológica ciertas modificaciones que impiden la estequiometría $C_n(H_2O)_n$, pero que siguen denominándose hidratos de carbono. Según el tipo de modificación, los principales son:

a) *Alditoles y desoxiazúcares*. Estos se forman por *reducción*, bien del grupo carbonilo a alcohol (familia de *alditoles*), o por la pérdida de algún grupo hidroxilo (familia de los *desoxiazúcares*). Los alditoles se denominan con el mismo nombre del azúcar relacionado acabado en *-itol* (de D-manosa, *D-mannitol*; de D-ribosa, *D-ribitol*). En muchos casos, el nombre puede parecer diferente, como en el caso de la D-glucosa, cuyo derivado se llama *D-sorbitol*, por coincidencia con el obtenido de la cetohexosa D-sorbose. Los alditoles no pueden ciclar y ello hace que no se absorban en el intestino (por lo que son laxantes) pero sí pueden utilizarse como alternativa de la D-glucosa en la alimentación intravenosa o parenteral, en pacientes en los que ésta puede presentar contraindicaciones.

Respecto a desoxiazúcares, los ejemplos más importantes son la *2-D-desoxirribosa*, constituyente del ADN (véase el Cap. 8) y la *L-fucosa*, bastante frecuente en glicoconjungados, que es una hexosa sin grupo hidroxilo sobre el carbono terminal (Fig. 5-7).

b) *Aminoazúcares*. Contienen un grupo *amino* sustituyendo un grupo hidroxilo, generalmente en C₂. Además, el amino suele encontrarse acetilado en la mayoría de los derivados de importancia fisiológica. La Figura 5-8 muestra las estructuras de los más comunes, 2-D-glucosamina, 2-D-manosamina y 2-D-galactosamina.

c) *Azúcares ácidos*. Los carbonos terminales de las aldosas pueden *oxidarse* a grupos carboxilo, dando lugar a los *azúcares ácidos*. Existen tres tipos, según el extremo que se oxida (Fig. 5-9). Los de mayor importancia fisiológica son los ácidos *urónicos*, que tienen oxidado el último carbono, por lo que conser-

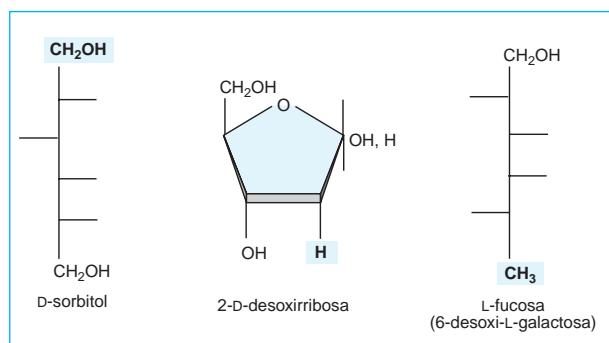


Figura 5-7. Estructura de 3 monosacáridos reducidos, un alditol (*D-sorbitol*) y dos desoxiazúcares (*2-D-desoxirribosa* y *L-fucosa*).

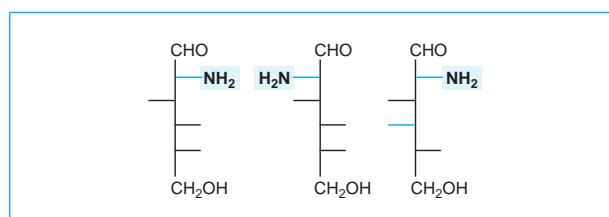


Figura 5-8. Estructura de Fischer para los 2-D-aminoazúcares glucosamina, manosamina y galactosamina. La acetilación del grupo amino da lugar a los N-acetildervados, mucho más abundantes.

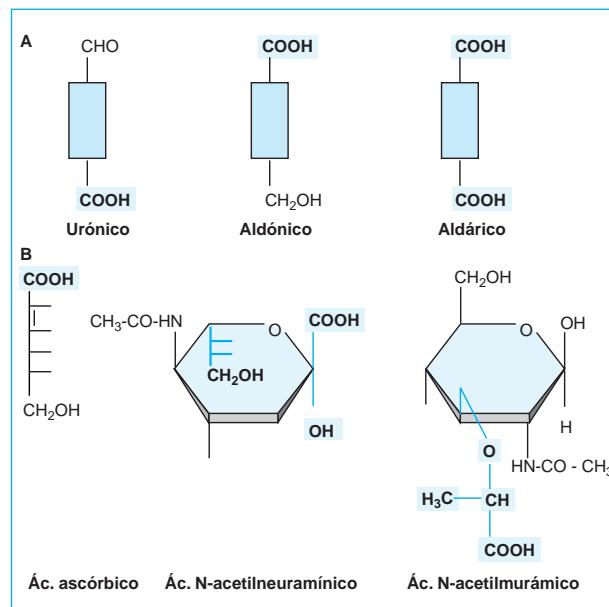


Figura 5-9. (A) Esquema de las 3 familias de azúcares ácidos posibles. Los urónicos son los de mayor importancia metabólica; (B) Estructura de otros 3 azúcares ácidos de interés, el ascórbico, el N-acetylneuramínico y el N-acetilmurámico.

van el grupo aldehído en el otro extremo y la posibilidad de estructura cíclica y anomería. El ácido *D-glucurónico*, derivado de la *D-glucosa*, es un integrante muy común en polisacáridos estructurales y, además, participa en mecanismos de destoxicificación mediante la formación de derivados *glucurónidos*, fácilmente eliminables en la orina. Los ácidos *aldónicos* tienen oxidado el carbono 1, por lo que no ciclan y dan lugar a anómeros. Participan en ciertas reacciones del metabolismo, como es el caso del ácido *D-glucónico*. Finalmente, los ácidos *aldáricos*, como el ácido *D-glucárico*, son dicarboxílicos y apenas participan en el metabolismo animal.

- d) Otros derivados ácidos contienen modificaciones estructurales más abundantes. Entre ellos, cabe citar por su importancia el *ácido ascórbico* o *vitamina C*, y los *ácidos murámico* y *neuramínico*, que en su forma acetilada son componentes, respectivamente, de las paredes celulares bacterianas y de la cubierta de células animales (Fig. 5-9 y Recuadro 5-3).

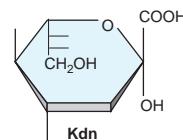
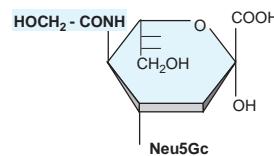
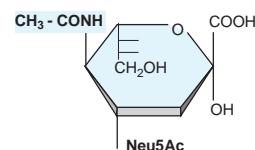


Figura 5-10. Estructura de las 3 unidades más importantes de los ácidos siálicos, los ácidos 5-acetilneuramínico, 5-glicolilneuramínico y desaminoneuramínico.

Recuadro 5-3. ÁCIDOS SIÁLICOS

Se denominan *ácidos siálicos* a una familia de derivados del *ácido neuramínico*, que se encuentran en los extremos terminales de los oligosacáridos de una gran variedad de glicolípidos y glico-proteínas. Estas sustancias se encuentran en los extremos de las proteínas de reconocimiento celular implicadas en muchos procesos biológicos, desde formar parte de receptores celulares para la entrada de micoplasmas, virus, toxinas bacterianas, de ciertos anticuerpos específicos, y de participar en procesos de interacción o adhesión celular, incluidos los que determinan la fecundación entre gametos.

Existen principalmente 3 familias que se diferencian en el sustituyente sobre el carbono 5 de la estructura básica. Sus representantes más sencillos (Fig. 5-10) son el ácido *N-acetilneuramínico* (abreviado, *Neu5Ac* o, también, *NANA*), el ácido *N-glicolilneuramínico* (*Neu5Gc*) y el ácido *desaminoneuramínico* (*Kdn* por o ácido 2-ceto-3-desoxi-D-glicero-D-galactonónico). El más

común es el ácido *N-acetilneuramínico* (p. ej., su contenido está entre el 80-90% del total en glicolípidos y glico-proteínas determinantes de los grupos sanguíneos 0, A, B y AB, en las membranas de los eritrocitos), pero existen otros miembros de cada familia con hidroxilos sustituidos por grupos Acilo (Ac) Lactilo (Lt), Sulfato (S), Fosfato (P) o Metilo (Me), lo que da una gran diversidad al grupo.

El *N-glicolilneuramínico* (*Neu5Gc*) ha tomado una cierta importancia en los últimos años, como consecuencia de ser una de las pocas biomoléculas, hasta ahora conocidas, que diferencia el ser humano de los primates superiores. El *Neu5Gc* se forma a partir del *NANA* por una *hidroxilasa* dependiente de nucleótidos de citosina, y ese gen está completo y activo en la mayoría de los animales, incluyendo los primates superiores, pero está truncado en el cromosoma humano, por lo que la proteína no tiene actividad enzimática y no puede llevar a cabo la hidroxilación que pasa el resto N-acetyl a N-glicolil (el ácido acético es $\text{CH}_3\text{—COOH}$ y el glicólico $\text{CH}_2\text{OH}\text{—COOH}$). Dicha truncación

genética es utilizada como un marcador del momento del reloj biológico en el que se produjo la separación entre los primates superiores y los homínidos durante la evolución, y la ausencia de *Neu5Gc* como un marcador de tejido humano (véase el Cap. 39).

Sin embargo, en ciertos casos se ha descrito la presencia en seres humanos de pequeñas cantidades de *Neu5Gc*. Parece que esto es debido a la ingestión en la dieta, ya que estos productos son mal digeridos y pueden acumularse en nuestros tejidos, integrándose en la estructura de nuestros propios glicoconjungados. Los productos lácteos de leche de cabra y las carnes rojas son los nutrientes que presentan una mayor riqueza en *Neu5Gc*, con gran diferencia (Tabla 5-2). Además, el *Neu5Gc* es muy antigénico, por lo que estimula el sistema inmunológico y la aparición de anticuerpos específicos que pueden ser responsables de ciertas enfermedades o trastornos humanos si se mantienen a una concentración alta durante tiempos relativamente largos. Este alto contenido de *Neu5Gc* ha llegado a cuestionar la idoneidad de tales alimentos.

Tabla 5-2. Riqueza en Neu5Gc en algunos alimentos

Alimento	Contenido medio en ác. siálico total, µg/g	% Neu5Gc en ác. siálico	Neu5Gc, µg/g	Ingesta diaria de Neu5Gc con dietas recomendadas, µg/g
Atún	32	0.1	0.03	27
Pollo	76	0.1	0.08	27
Leche de vaca	262	3	7.9	710
Mantequilla	40	3	1.2	45
Queso de vaca	160	4	6.4	600
Cordero	101	18	18.2	4860
Cerdo	134	19	25.5	5130
Queso de cabra	95	42	39.9	5550
Ternera	80	40	30.1	11600

e) Azúcares esterificados. Los azúcares pueden *esterificarse* por reacción de algún grupo hidroxilo con ácido fosfórico o sulfúrico. Los *azúcares fosfato* tienen gran importancia para el metabolismo, y participan en las rutas, tanto de degradación como de biosíntesis de los polisacáridos. También se encuentran en los ácidos nucleicos (véase el Cap. 8) y de varias coenzimas (véase el Cap. 9). Los ésteres sulfúricos participan menos en el metabolismo, y más en la estructura de polisacáridos de tejidos mineralizados y fibrosos.

5.6 EL ENLACE GLICOSÍDICO

5.6.1 Naturaleza del enlace

Genéricamente, los *hemiacetales* pueden reaccionar, a través del hidroxilo libre que tienen en su carbono anomérico, con hidroxilos de otro alcohol para dar lugar al *enlace acetálico* (Fig. 5-11). En el caso de los hidratos de carbono, este enlace se nombra *enlace glicosídico*, y el compuesto resultante se llama *glicósido*. Como el carbono anomérico tiene dos configuraciones, el enlace glicosídico puede ser de dos tipos, α y β .

Algunos glicósidos derivados de la D-glucosa (por tanto, *glucósidos*) tienen importancia farmacológica. Por citar algunos, la *floricina* se obtiene de la corteza del peral e inhibe la reabsorción de la glucosa en el riñón, ocasionando glucosuria, mientras que la *ouabaína* es un glucósido de los deno-

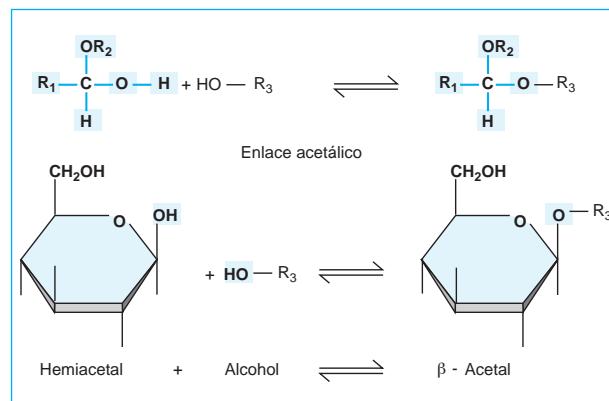


Figura 5-11. Enlace acetálico (glicosídico) y formación de acetales (glicósidos). Si el alcohol R_3 es también un azúcar, el producto obtenido es un oligosacárido.

minados cardíacos, que contiene un alcohol de naturaleza esteroide (véase el Cap. 6) e inhiben la bomba iónica ATP-asa Na^+/K^+ (véase el Cap. 10), afectando la contracción del músculo cardíaco.

En realidad, el enlace glicosídico no es exclusivo del átomo de oxígeno, y en algunos casos se forma con grupos nitrogenados. El ejemplo más abundante de ello es el enlace N-glicosídico, se encuentra en los nucleósidos y nucleótidos, donde el carbono anomérico de la pentosa se une a uno de los nitrógenos presentes en la base (normalmente, con configuración β (véase el Cap. 8).

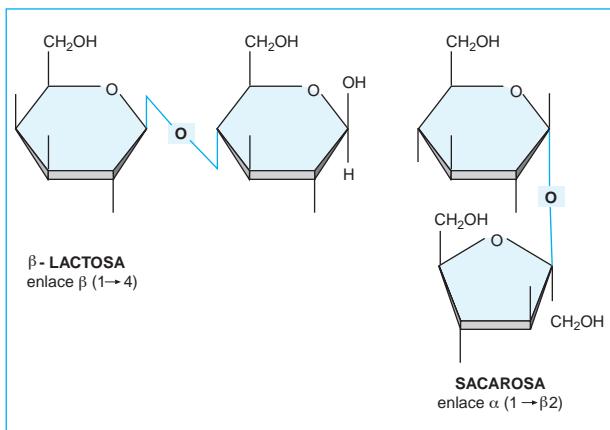


Figura 5-12. Estructura de los 2 disacáridos más frecuentes, la lactosa y la sacarosa. Sólo el primero es reductor por poseer un carbono anomérico libre.

5.7 DISACÁRIDOS

Si en un glicósido, el primer monosacárido se une a un grupo alcohol de otro monosacárido, el glicósido formado es un *disacárido*. Si se forman más enlaces glicosídicos con otras unidades, se forman oligosacáridos y en último extremo, polisacáridos.

Los oligosacáridos con mayor importancia fisiológica son los disacáridos y dentro de ellos destacamos la *lactosa* (azúcar de la leche, formado por un enlace β (1 → 4) entre galactosa y glucosa) y la *sacarosa* (el azúcar común o de mesa, formado por un enlace β (2 → 1) entre fructosa y glucosa).

Si nos fijamos en la estructura resultante, la lactosa contiene un carbono anomérico libre en la glucosa, de forma que aún puede mutarrotar y presenta dos isómeros α y β -lactosa (el más abundante es el β) (Fig. 5-12), además de mostrar las propiedades reductoras típicas de los carbonos anoméricos libres. Sin embargo, la sacarosa tiene el enlace glicosídico entre los dos carbonos anoméricos de la α -D-glucosa y la β -D-fructosa, por lo que no puede mutarrotar, ni presenta dos isómeros ni tiene propiedades reductoras.

5.8 POLISACÁRIDOS

Los oligosacáridos pueden incorporar nuevas moléculas de monosacárido con enlaces glicosídicos, prolongando las cadenas hasta contener miles de unidades y formando *polisacáridos*, también llamados *glicanos*. Estos compuestos tienen tamaño molecular muy grande, y suelen ser insolubles, o formar soluciones coloidales. Los enlaces más

usuales se forman entre el carbono anomérico y los hidroxilos situados sobre los carbonos 4, 6 y 3, en este orden. Si se forman con un solo tipo de enlace, el polisacárido forma una cadena lineal; pero si coexisten varios, el polisacárido es ramificado.

Según la composición de las unidades de monosacárido que se unen, se clasifican en *homopolisacáridos* y *heteropolisacáridos*. Los primeros son más abundantes y se suelen denominar de forma genérica con el nombre del monosacárido constituyente, acabado en *-ano*. Así, se habla de *glucanos*, *fructanos*, *mananos*, *galactanos*, etcétera. Algunos de ellos son importantes en botánica, en microbiología, o por sus aplicaciones en tecnología de alimentos y biomedicina. Los principales son los glucanos, que incluyen el *almidón* y el *glucógeno*, los dos polisacáridos de reserva en vegetales y animales, respectivamente, así como la *celulosa* y la *quitina*, que desempeñan una función estructural como integrantes de la madera y del exoesqueleto de los insectos y crustáceos, respectivamente. Los heteropolisacáridos son menos abundantes, pero mucho más variados, e incluyen una larga serie de polisacáridos estructurales componentes de las mucosas, el tejido conjuntivo, el líquido sinovial, el humor vítreo, el cartílago, la córnea, el hueso, etc.

5.8.1 Homopolisacáridos

El *almidón* es una molécula de masa molecular grande, pero variable según su fuente vegetal, entre 10 y 10 000 kDa. Tiene dos componentes diferenciados (Fig. 5-13):

- Amilosa:* Es el componente principal de la mayoría de los almidones. Consiste en cadenas lineales de D-glucosa unidas por enlaces α (1 → 4), que tienden a adoptar una estructura espacial helicoidal y dan una fuerte coloración azul con yodo.
- Amilopectina:* Son cadenas ramificadas con enlaces α (1 → 4) en la porción lineal y α (1 → 6) en los puntos de ramificación. Su estructura tridimensional es desordenada, según el número de ramificaciones. Con el yodo, da una coloración de violeta a marrón.

El *glucógeno* desempeña en los animales la misma función de reserva que el almidón en las plantas. Su masa molecular es mayor, superando en muchos casos los 10^5 kDa. Se asemeja a la amilpectina pero con un mayor número de ramificaciones, aproximadamente un enlace α (1 → 6) por cada 8 a 10 unidades de D-glucosa, según el animal u órgano correspondiente. Se almacena en el hígado para mantener la glucemia, y en el músculo, como reserva energética.

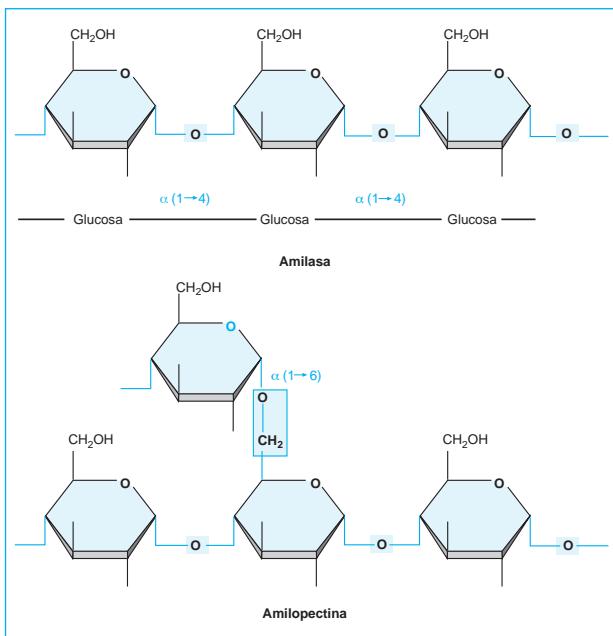


Figura 5-13. Estructura de los 2 componentes del almidón, la amilasa lineal y la amilopectina ramificada. Obsérvense los enlaces glicosídicos α .

La celulosa constituye la biomolécula más abundante de la naturaleza, ya que contiene el 50% del carbono orgánico de la biosfera (constituye el 50% de la madera y casi el 100% del algodón). Está formada por cadenas lineales de masa molecular de entre 200 y 400 kDa, compuestas por unidades de D-glucosa unidas por enlaces β (1→4) (Fig. 5-14). Estos enlaces no son hidrolizados por las enzimas digestivas humanas, lo que explica que la celulosa no sea digerible. Los rumiantes sí la digieren, gracias a la acción de celulasas de su flora bacteriana.

La quitina es muy semejante a la celulosa, con enlaces glicosídicos β (1→4) y cadenas lineales, pero la unidad del polímero es la *N*-acetil-2-D-glucosamina (Fig. 5-14).

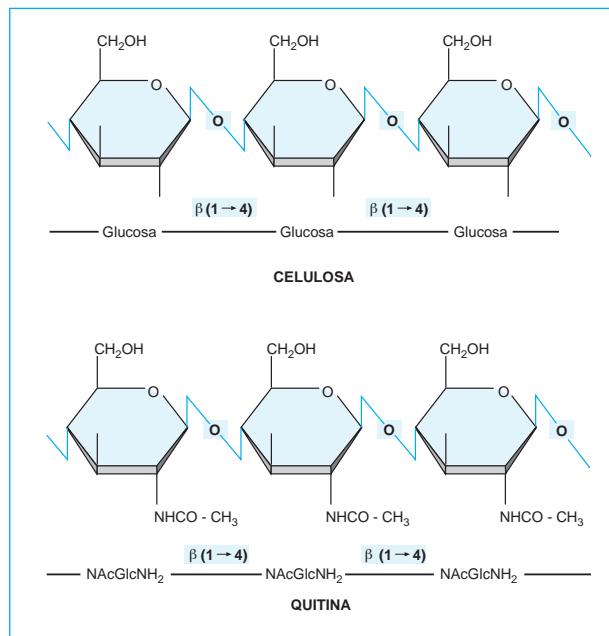


Figura 5-14. Estructura de los homopolisacáridos estructurales celulosa y quitina. Obsérvense los enlaces glicosídicos β .

5.8.2 Heteropolisacáridos

Estos polisacáridos tienen funciones estructurales, y suelen estar formados por unidades de *ácidos urónicos* y *aminoazúcares* acetilados, unidos de forma alternante por enlaces de tipo β . Sin embargo, a veces contienen monosacáridos neutros o modificados con grupos sulfato. Se denominan también *glicosaminoglicanos* o *mucopolisacáridos*, pero, frecuentemente, se encuentran unidos en forma covalente a una cadena proteica, formando *proteoglicanos*, tal como se describe en el Capítulo 34, donde se puede encontrar una descripción más detallada de este tipo de estructuras complejas.

RESUMEN

- Los hidratos de carbono son biomoléculas con unidades que, desde el punto de vista de química orgánica, pueden considerarse aldehídos o cetonas (aldosas o cetosas), con funciones alcohol en el resto de sus carbonos. Las unidades más abundantes son de 5 ó 6 carbonos (pentosas y hexosas).
- La existencia de los grupos hidroxilo da lugar a que los carbonos sean asimétricos y, por tanto, tengan actividad óptica. Las combinaciones de configuraciones de cada carbono asimétrico dan lugar a una gran cantidad de isómeros, aunque sólo unos pocos tienen importancia metabólica.
- En función de la configuración del último carbono asimétrico, se establecen dos familias, D y L. Los monosacáridos más abundantes e importantes son de la serie D.
- La representación de las unidades se realiza básicamente en forma abierta (Fischer) o cíclica (Haworth). En la cíclica se forma un enlace hemiacetálico, que es reversible y da lugar a la formación de dos anómeros y la posibilidad de mutarrotación entre ellos cuando se encuentran en disolución.
- Las unidades pueden sufrir distintas transformaciones químicas, dando lugar a gran cantidad de derivados. Los de más importancia biológica son los alditoles, desoxiazúcares, aminoazúcares, ácidos aldónicos y urónicos y fosfoazúcares.
- Al formarse hidratos de carbono más complejos, según el número de unidades que posean se clasifican en monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos. La unión de unidades a otros tipos de biomoléculas da lugar a glicoconjungados.
- En estos compuestos, el enlace que se forma se denomina glicosídico. Este enlace tiene dos configuraciones posibles (α , α , y β) y da lugar a estructuras lineales o ramificadas según la posición del grupo alcohol que reacciona, generalmente con un carbono anomérico.

EVALUACIÓN

1. (B). Estructura y propiedades de los hidratos de carbono:
 1. La D-ribosa es una aldopentosa.
 2. La sacarosa contiene D-fructosa.
 3. El almidón está formado por unidades de D-Glc.
 4. La lactosa no presenta mutarrotación.

a b c d e

2. (A). ¿Qué puede contener una disolución que se colorea de azul oscuro al añadir yodo?
 - a. Glucosa.
 - b. Dextrina límite.
 - c. Lactosa.
 - d. Heparina.
 - e. Almidón.

3. (B). La lactosa:
 1. Es un disacárido que contiene galactosa.
 2. Contiene un enlace glicosídico de tipo beta.
 3. Presenta dos anómeros que pueden mutarrotar disueltos en solución acuosa.
 4. Es un nutriente que se encuentra en la leche.

a b c d e

4. (A). ¿Cuántos azúcares son NO reductores entre: almidón, glucosa, fructosa, maltosa y sacarosa?
 - a. 1
 - b. 2
 - c. 3
 - d. 4
 - e. 5

5. (B). El ácido hialurónico:
 1. Es un heteropolisacárido.
 2. Está formado por unidades de ácido glucurónico y N-acetilglucosamina.
 3. Todos sus enlaces glicosídicos tienen configuración beta.
 4. Todos sus enlaces glicosídicos son β ($1 \rightarrow 4$).

a b c d e

6. (B). Ribosa y desoxirribosa. Es cierto que:
 1. Ambas son pentosas.
 2. La desoxirribosa forma parte de los ARN.
 3. El carbono 1 posee configuración β cuando estos azúcares forman parte de los ácidos nucleicos.
 4. Las dos son cetopentosas.

a b c d e

7. (A). Sobre las formas anoméricas de la D-glucosa:
 - a. Difieren en el carbono 6.
 - b. Son dos moléculas enantiomorfas.
 - c. Participan de un modo indistinto en los enlaces glicosídicos del glucógeno.

8. (C). La D-fructosa y la D-glucosa son epímeros en el carbono 2 PORQUE la primera es una cetohexosa en dicho carbono 2, mientras que la segunda es una aldohexosa con la misma configuración que la D-fructosa en los carbonos 3, 4 y 5.

a b c d e

9. (B). Indicar cuáles, de las siguientes relaciones, son correctas:
 1. D-glucosa y L-glucosa, estereoisómeros.
 2. D-glucosa y D-galactosa, epímeros.
 3. D-glucosa y D-manosa, epímeros.
 4. D-galactosa y D-manosa, epímeros.

a b c d e

10. (A). Un cierto hidrato de carbono posee una rotación óptica de -2° , si la medida se hace en un polarímetro con un tubo de 10 cm de longitud. Si la rotación específica es de -200° , la concentración del hidrato de carbono en la disolución será:
 - a. 10 g/L.
 - b. 1 M.
 - c. 1 g/L.
 - d. 0.1 M.
 - e. Nada de lo anterior.

11. (B). Estructura de derivados de la glucosa:
 1. El sorbitol es un derivado reducido de la glucosa.
 2. El ácido glucónico es un derivado reducido de la glucosa.
 3. El ácido glucárico es un derivado dicarboxilado de la glucosa.
 4. El ácido glutárico es un derivado dicarboxilado de la glucosa.

a b c d e

12. (A). La maltosa:
 - a. Tiene enlace glicosídico de tipo β .
 - b. Puede existir en dos formas anoméricas, α y β .
 - c. Contiene enlaces glicosídicos de tipo α ($1 \rightarrow 6$).
 - d. Es una aldohexosa.
 - e. No tiene propiedades reductoras.

13. (B). La lactosa:
 1. Es un disacárido con el mismo tipo de enlace glicosídico que el presente en la cellobiosa.
 2. Por hidrólisis libera cantidades estequiométricas de glucosa y fructosa.
 3. Es la O- β -D-galactopiranósil ($1 \rightarrow 4$)-D-glucopiranosa.
 4. Es la O- β -D-glucopiranósil ($1 \rightarrow 2$)- β -fructofuranosa.

a b c d e

EVALUACIÓN (continuación)

14. (C). La sacarosa es un disacárido no reductor PORQUE el enlace glicosídico está formado entre los carbonos anoméricos respectivos de la glucosa y la fructosa.
- a b c d e
15. (A). Propiedades de los polisacáridos:
- El glucógeno está formado por D-glucosa unidas por enlaces glicosídicos de tipo α .
 - Un heteropolisacárido está compuesto por muchas moléculas de un mismo monosacárido, unidas entre sí por diferentes tipos de enlaces glicosídicos.
 - La celulosa es un polímero de la D-glucosa no degradable por la gran cantidad de ramificaciones que tienen sus moléculas.
 - En general, los polisacáridos son más reductores que los monosacáridos, ya que poseen una mayor cantidad de carbonos anoméricos libres.
 - Nada de lo anterior es cierto.
16. (B) Homopolisacáridos:
- El glucógeno es un polisacárido de función estructural.
 - La celulosa está formada por unidades de D-glucosa.
 - Las moléculas de amilosa son generalmente mayores que las de amilopectina.
 - Los dos tipos de enlace existentes en el glucógeno son $\alpha(1 \rightarrow 4)$ y $\alpha(1 \rightarrow 6)$.
- a b c d e
- 17 (B). Quitina:
- En el carbono 2 de su monosacárido unidad hay unidos grupos amino acetilados.
 - Es un constituyente de la cutícula de los crustáceos.
 - Las unidades constituyentes son de N-acetyl-2-D-glucosamina.
 - Su molécula catenaria es lineal.
- a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Dwek RA: Glycobiology: More functions for oligosaccharides. *Science* 1995; 269: 1234-125.
- Maeder T: Glucómica. *Inv y C* 2002; septiembre: 6-12.
- Rahi H: Cyclic structures of monosaccharides. The Fischer and Harworth projection formula. The α - and β - anomers. *Biochem Educ* 1991; 19: 29-31.
- Ruiz-Herrera J: La quitina. *Inv y C* 1993; julio: 42-49.
- Sharon N: Carbohidratos. *Inv y C* 1981; enero: 48-60.
- Sharon N, Lis H: Carbohidratos en el reconocimiento celular. *Inv y C* 1993; marzo: 20-26.

6.1 CONCEPTO Y PROPIEDADES

Los *lípidos* son un grupo de biomoléculas muy heterogéneo desde el punto de vista estructural. La característica común que presentan y reúne a todas estas sustancias en un grupo es la hidrofobia de sus moléculas o, al menos, de una parte de ellas. Esta hidrofobia hace que su solubilidad en el agua sea generalmente escasa y, a veces, nula, pero que sean solubles en disolventes más o menos apolares, como benceno, éter, acetona o metanol.

Sus funciones biológicas son casi tan variadas como su estructura. Si citamos las más importantes, la primera y más conocida de todos es el papel de reserva energética que tienen en los tejidos grados y, especialmente, en el interior de los adipocitos. Pero esta función es distinta de la segunda función más común a estas moléculas, el papel estructural que presentan los fosfolípidos en una membrana, que son los verdaderos artífices de la formación de las bicapas y, por tanto, de la compartimentación biológica esencial para la vida. Si éstas son las dos funciones de los lípidos más abundantes, otros lípidos menos abundantes cumplen funciones reguladoras o señalizadoras, como la que llevan a cabo las hormonas esteroideas, los derivados del ácido araquidónico o las vitaminas, y otros cumplen funciones lubricantes, protectoras, impermeabilizantes, emulsionantes y digestivas.

6.2 CLASIFICACIÓN: LÍPIDOS SIMPLES, COMPLEJOS E ISOPRENOIDES

La clasificación de los lípidos ofrece dificultades que parten de su diversidad estructural, y no existe una única forma de clasificación sencilla, al estilo de la existente para los hidratos de carbono. En este contexto, la clasificación se utilizará para una presentación ordenada, y ni es la única posible ni trata de ser una clasificación global que trata de incluir todos los lípidos. Sólo se presentan los más importantes desde el punto de vista del metabolismo humano. De este modo, se establecen tres grandes grupos de lípidos.

6.2.1 Lípidos simples

Son los formados por las unidades estructurales, de naturaleza bien ácida o alcohólica, los ésteres de éstas y los derivados relacionados con las unidades ácidas, con importantes efectos sobre el metabolismo intracelular en tejidos más o menos específicos.

- a) Unidades estructurales no esterificadas: *ácidos grasos* y *alcoholes grasos*.
- b) Ésteres: *monoacilglicéridos*, *diacilglicéridos* y *triacilglicéridos* o *grasas neutras*.
- c) Derivados de ácidos grasos de importancia reguladora: *prostaglandinas*, *tromboxanos* y *leucotrienos*.

6.2.2 Lípidos complejos

Son lípidos en los que existen unidades estructurales de las anteriores unidas por enlaces éster con algún otro componente de naturaleza polar, como fosfato, alcoholes e hidratos de carbono hidrofílicos. Son de mayor tamaño que los simples, y normalmente, siempre tienen características anfipáticas, es decir, tienen parte hidrófoba y parte hidrófila, lo que los hace muy adecuados para formar bicapas de forma espontánea. Pueden subclasicarse en:

- a) *Fosfolípidos*. Su característica común es la presencia de algún grupo fosfato. Según el alcohol graso que contienen, se clasifican en *fosoacilglicéridos* y *esfingomielinas*.
- b) *Glicolípidos*. Poseen siempre *esfingosina* y, además, algún hidrato de carbono en su molécula, como indica su nombre. Existen tres tipos principales: *cerebrósidos*, *globósidos* y *gangliósidos*. En algunos casos, el hidrato de carbono contiene ésteres sulfúricos, por lo que el lípido se denomina *sulfátido* o *sulfolípido*.
- c) Lípidos conjugados con macromoléculas: *lipoproteínas* y *lipopolisacáridos*.

6.2.3 Lípidos isoprenoides o insaponificables

Derivan estructuralmente del *isopreno* o 2-metil-butadieno y no contienen enlaces éster, propiedad que caracteriza a este grupo. Se incluyen los siguientes compuestos:

a) terpenos y aromas; b) esteroides; c) retinoles y carotenoides; d) tocoferoles, y e) poliprenilquinonas.

Además, en los tejidos de organismos vivos existen otros lípidos, debido a modificaciones o solapamientos entre los tres grupos anteriores; entre los que se encuentran los ésteres de colesterol, plasmalógenos, éteres glicéricos o, incluso, pequeñas cantidades de hidrocarburos.

6.3 UNIDADES BÁSICAS: ÁCIDOS Y ALCOHOLÉS GRASOS

Los *ácidos grasos* son ácidos monocarboxílicos de cadena lineal, con un número de átomos de carbono entre 4 y 26. Tal definición incluye desde el *ácido butírico*, de 4 carbonos, al *ácido cerótico*, de 26; pero los ácidos grasos más abundantes tienen entre 14 y 20 carbonos, con un pico máximo en los de 18 átomos de carbono. Existen más de 100 diferentes, pero los importantes, que suponen más del 95% del contenido total encontrado en las grasas naturales, son solamente nueve, cuatro saturados y cinco insaturados (Tabla 6-1). De ellos, los más abundantes de cada grupo son el *ácido palmítico* y el *oleico*.

Los ácidos grasos se abrevian normalmente con la notación ($\Delta^{i,j,\dots}$) C_{m:n}. La C representa el carbono, y los subíndices m:n señalan, respectivamente, el número total de átomos de carbono y de insaturaciones. La letra griega Δ denota que el ácido graso es insaturado y, por tanto, no se escribe en los ácidos grasos saturados. Los superíndices de la letra delta, Δ^{i,j}, indican las posiciones donde se encuentran los dobles enlaces, y, por tanto, existen tantos superíndices como indica el

número n. Otra nomenclatura para los ácidos insaturados de interés nutricional, que está siendo cada vez más utilizada por la relación que tiene con el metabolismo de estos ácidos, establece la distancia entre el doble enlace más próximo y el grupo metilo terminal, al que se asigna la letra ω y el número 1. Así, el ácido linolénico es un ácido graso ω3 y el linoelico o el araquidónico son ácidos ω6. Existen 4 familias de ácidos ω, las ω3, ω6, ω7 y ω9, y en los animales, las transformaciones entre ácidos grasos por extensión de la cadena siempre producen otro de la misma familia o de otra con distancia mayor, pero no menor. Además, las dos primeras familias se forman respectivamente, a partir del linolénico o linoelico, por lo que estos ácidos grasos son *esenciales* (Recuadro 6-1).

Las propiedades más importantes y comunes a los ácidos grasos naturales son:

1. El número de carbonos es casi siempre par, y sólo existen trazas de ácidos grasos impares. Ello se debe al mecanismo normal de síntesis de los ácidos grasos, que se produce por adición de unidades de acetilo, que contiene 2 átomos de carbono.
2. Cuando el ácido graso es poliinsaturado, los dobles enlaces nunca son conjugados, sino que se sitúan cada tres eslabones de la cadena. Además, salvo excepciones, los dobles enlaces tienen siempre la configuración *cis*, existiendo pequeñas cantidades de los isómeros *trans*. Por ejemplo, el ácido *elaídico*, isómero *trans* del oleico, es muy escaso en productos naturales.
3. A igualdad de número de carbonos, los ácidos grasos insaturados *cis* tienen temperaturas de fusión menores

Tabla 6-1. Estructura de los principales ácidos grasos

Nombre	Abreviatura	Estructura
Mirístico	C ₁₄	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -COOH
Palmítico	C ₁₆	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -COOH
Esteárico	C ₁₈	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -COOH
Araquídico	C ₂₀	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -COOH
Palmitoleico	Δ ⁹ C _{16:1}	CH ₃ -(CH ₂) ₅ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH
Oleico	Δ ⁹ C _{18:1}	CH ₃ -(CH ₂) ₇ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH
Linoleico	Δ ^{9,12} C _{18:2}	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH
Linolénico	Δ ^{9,12,15} C _{18:3}	CH ₃ -(CH ₂ -CH=CH) ₃ -(CH ₂) ₇ -COOH
Araquidónico	Δ ^{5,8,11,14} C _{20:4}	CH ₃ -(CH ₂) ₃ -(CH ₂ -CH=CH) ₄ -(CH ₂) ₃ -COOH

Recuadro 6-1.**GRASAS, DIETA Y NECESIDADES NUTRICIONALES HUMANAS**

Mucho se ha escrito sobre las necesidades nutricionales de grasas, las ventajas de los ácidos grasos insaturados sobre los saturados, y dentro de los primeros las bondades de los $\omega 3$, siendo frecuente encontrar con el mercado alimentos enriquecidos con este tipo de ácidos grasos. En principio, el único requisito nutricional absoluto respecto a los lípidos es la necesidad de ingerir una pequeña proporción de ácidos grasos *esenciales* (principalmente linoleico y linolénico), que en una dieta con un balance lipídico normal suponen menos del 1% de la ingesta total de lípidos.

Las grasas animales contienen entre 40-60% de ácidos grasos saturados, un 30-50% de insaturados y menos del 5% de poliinsaturados, con sólo trazas de los $\omega 3$. Las vegetales, excepto alguna excepción como el aceite de cacao, con alto contenido en saturados, tienen entre 10-20% de saturados y el resto insaturados, con predominio variable. El aceite de oliva tiene 79% de oleico, mientras el de girasol posee un 76% de linoleico. Pero los vegetales tienen también poco contenido de los $\omega 3$, y sólo el de soja

puede llegar a un contenido cercano al 5%. Los aceites de pescado, como salmón, sardina o arenque, son los únicos que contienen hasta un 25% de ácidos grasos $\omega 3$.

¿Pero cuáles son las razones científicas que justifican la necesidad de los esenciales y la bondad de los insaturados, especialmente los $\omega 3$? En primer lugar, la deficiencia de los esenciales produce a medio plazo dermatitis, mala cicatrización de las heridas y coagulación sanguínea dificultosa. Las razones están basadas en su carácter precursor para formar PG, TX y LT, compuestos importantes para muchos procesos. Las PG de la serie 2 necesitan un precursor $\omega 6$ para formarse (directamente araquidónico e indirectamente linoleico), y las de la serie 3 necesitan un $\omega 3$ como el EPA (Ácido Eicosapentaenoico, $C_{20:5}, \Delta^{5,8,11,14,17}$). Otro hecho directamente relacionado con los $\omega 3$ es el DHA (Ácido Docosahexaenoico, $C_{22:6}, \Delta^{5,7,10,13,16,19}$) que está presente en la retina y en algunas membranas neuronales del cerebro, por lo que se propone que este ácido graso podría ser necesario para mejorar la visión o el funcionamiento cerebral.

En general, los ácidos grasos insaturados parecen que reducen el riesgo de trombosis, no sólo los esenciales ni los

$\omega 3$, debido al efecto sobre el nivel plasmático de lipoproteínas, especialmente sobre la ApoE. Además, de forma opuesta a los saturados, aceleran la ubiquitinación y el recambio intracelular de proteínas (véase el Cap. 16) mejorando el metabolismo celular.

Por otra parte, es muy aceptada la idea de que las dietas ricas en ácidos grasos insaturados rebajan el nivel de colesterol y triacilglicéridos en plasma. Es cierto que dietas ricas en ácidos grasos saturados aumentan la colesterolemia, y dietas ricas en insaturados la bajan, pero no se conoce ningún mecanismo molecular riguroso que relate estos dos parámetros. Algunos investigadores creen que se trata de una relación coyuntural basada en la asociación: las grasas animales tienen más ácidos grasos saturados y más contenido en colesterol, mientras que las grasas vegetales más insaturadas no tienen colesterol, sino que contienen fitosteroles (principalmente β -sitosterol), un esterol que se absorbe mal en el intestino y en gran parte se excreta. Por tanto, los dos parámetros serían independientes, y la asociación en la fuente nutricional explicaría la correlación inversa entre ácidos grasos insaturados y bajo colesterol.

que los *trans*, y éstos, menores que los saturados. Por ello, las grasas animales ricas en ácidos grasos saturados son normalmente sólidas a temperatura ambiente, mientras que los aceites y las grasas vegetales, por su mayor riqueza en ácidos grasos insaturados, suelen ser líquidos. Esta propiedad está relacionada con el grado de empaquetamiento entre las moléculas, que es mayor entre las cadenas saturadas que entre las insaturadas con dobles enlaces *cis*.

4. Los ácidos grasos insaturados son fácilmente oxidables por el oxígeno atmosférico, formando peróxidos, sobre todo en caliente, lo que explica su tendencia al enranciamiento y a la pérdida de su calidad y fluidez.

Los *alcoholes grasos*, de forma semejante a los ácidos grasos, son compuestos con cadenas hidrocarbonadas lineales de longitud variable y que contienen, al menos, una función

alcohol en uno de sus extremos. Según su abundancia como constituyentes de los lípidos se pueden clasificar en dos grandes grupos:

1. Alcoholes muy ubicuos: existen dos, el *glicerol* (Fig. 6-1a), también llamado glicerina o 1,2,3-propanotriol, que es el alcohol básico en los acilglicéridos y fosfoacilglicéridos, y la *esfingosina*, alcohol básico de la estructura de los derivados de las *ceramidas*.
2. Alcoholes de menor abundancia relativa: este grupo incluye, en primer lugar, la serie de alcoholes de cadena larga y número par de carbonos, semejantes en tamaño a los ácidos grasos y que se encuentran normalmente en las ceras animales (abejas, cerumen del oído) o vegetales. Entre ellos, cabe destacar el *alcohol cetílico*, saturado y de 16 carbonos (Fig. 6-1b), pero existen algunos mucho más largos, como el *alcohol melísico*,

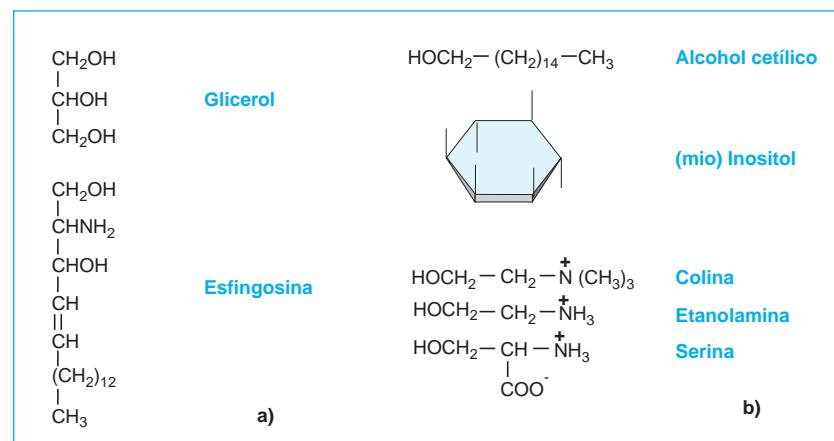


Figura 6-1. Estructura de los principales alcoholes encontrados en los lípidos: (a) glicerol y esfingosina, muy abundantes; (b) alcohol cetílico, encontrado en ceras, e inositol, colina, etanolamina y serina, encontrados en los fosfatidil derivados.

de 30 carbonos. En segundo lugar, debemos conocer un grupo de alcoholes de cadena corta, con estructura diversa y de carácter más bien hidrófilo, que son constituyentes de los *fosfoacilglicéridos*. La mayoría contiene otros grupos funcionales, también con carácter hidrofílico además de la propia función alcohol. Cabe destacar la *colina*, la *etanolamina*, el aminoácido *serina* y la familia del *inositol* (hexahidroxi-ciclohexano), con varios isómeros posibles, según la orientación relativa de los grupos hidroxilo. El más común es el *mio-inositol*, que tiene los 2 hidroxilos colocados en posiciones 1,3 en configuración contraria al resto de los hidroxilos.

6.4 LOS ÉSTERES DE LOS ÁCIDOS GRASOS: ACILGLICÉRIDOS

Este grupo de compuestos, también llamados *aceites* o *grasas neutras* por la ausencia de carga en sus moléculas, son ésteres entre el glicerol y los ácidos grasos. Una *esterificación* o formación de enlace éster es producida entre un grupo alcohol y un grupo carboxilo, con pérdida de una molécula de agua. La reacción contraria a la *esterificación* se llama *saponificación* (Fig. 6-2a). Los acilglicéridos son las principales moléculas de reserva energética de la célula, y su poder calorífico, cerca de 39 kJ/g, es muy superior al de los hidratos de carbono y las proteínas (sobre 17 kJ/g). Como la glicerina tiene tres grupos hidroxilo, pueden esterificarse con uno, dos o tres ácidos grasos, dando lugar a *monoacilglicéridos* (MAG), *diacilglicéridos* (DAG) y *triacilglicéridos* (TAG), respectivamente. Las grasas naturales contienen más del 99% de TAG, por lo que la contribución de DAG y MAG es minoritaria. Sin embargo, éstos son intermedios del metabolismo de los TAG de gran interés.

Los TAG pueden formarse por esterificación del glicerol con 3 moléculas del mismo ácido graso, dando lugar a un éster homogéneo, que se denomina con el prefijo *tri-* seguido de un nombre que hace referencia al ácido graso que contiene, más el sufijo *-ina* (p. ej., *tributirina*, *trioleína*, etc.). Pero las grasas naturales se forman en medios donde coexisten muchos ácidos grasos, por lo que están formadas por TAG, en los que las tres posiciones del glicerol suelen estar esterificadas por ácidos grasos diferentes, y se nombran especificando los radicales acilo correspondientes a cada ácido graso y sus posiciones (véase un ejemplo en la Fig. 6-2b). Es obvio que el número de combinaciones y de TAG distintos es muy grande, pero los TAG naturales suelen tener la posición 2 esterificada por un ácido graso insaturado y son de tipo L, debido a que muestran quiralidad en el carbono cen-

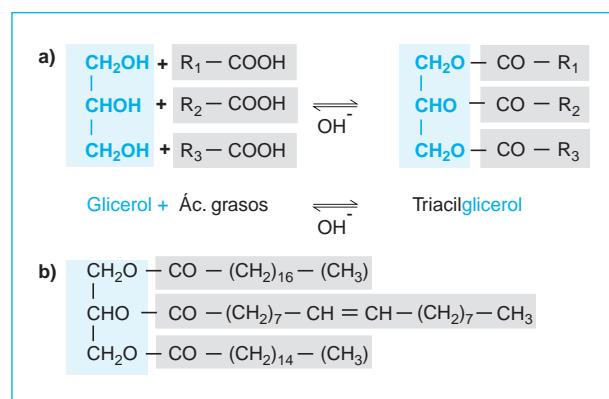


Figura 6-2. (a) Reacciones de esterificación para la formación de un triacilglicérido (TAG, derecha) y saponificación (izquierda). Las lipasas y el medio básico catalizan esta última. (b) Estructura de un TAG típico, 1-stearoil-2-oleoil-3-palmitoil-glicerol. Obsérvese el ácido graso insaturado en la posición central.

tral del glicerol, siempre y cuando el ácido graso de las posiciones 1 y 3 sea distinto.

Por su naturaleza heterogénea, las grasas naturales y los TAG naturales no tienen un punto de fusión definido, aunque es tanto menor cuanto mayor sea su contenido en ácidos grasos insaturados. El grado de insaturación de los TAG puede determinarse mediante algunos ensayos químicos, como el del *índice de yodo*. Las *oleínas* son abundantes en los aceites y líquidas a temperatura ambiente, mientras que las *margarinas* o *palmitinas* son sólidas y abundan en las grasas sólidas. Las plantas y los animales de sangre fría tienen en sus depósitos grasos y membranas TAG más ricos en ácidos grasos insaturados que los animales de sangre caliente, con el fin de permitir cierta fluidez en sus tejidos. En los seres humanos, los TAG subcutáneos son más ricos en insaturaciones y, por tanto, más líquidos que los que recubren las vísceras.

Los TAG pueden hidrolizarse, por lipasas o álcalis, para dar lugar a sus constituyentes (Fig. 6-2a). En este proceso se forman *jabones*, que son sales de los ácidos grasos que se liberan al saponificarse las grasas con los iones del álcali empleado en la saponificación, generalmente, sodio o potasio. Los jabones actúan como detergentes por su tendencia a formar micelas. Las micelas son estructuras esféricas con una cavidad interior apolar, formada por las colas hidrofóbicas y una superficie polar exterior, formada por las cabezas polares de los ácidos grasos o de otros lípidos anfipáticos descritos más adelante (véase la Fig. 7-15). En la cavidad pueden ubicarse moléculas hidrofóbicas insolubles en agua, como son la mayoría de los productos constituyentes de las manchas, etcétera.

6.5 DERIVADOS DE ÁCIDOS GRASOS DE IMPORTANCIA SEÑALIZADORA

Mientras la mayor parte de los ácidos grasos son constituyentes de los triacilglicéridos o de los lípidos complejos, una muy pequeña parte se utiliza para crear moléculas que, bien de forma ubicua o, bien en tejidos específicos, cumplen funciones de regulación o señalización de procesos fisiológicos muy importantes para el organismo, como la estimulación muscular, la regulación del diámetro de los vasos circulatorios, la coagulación sanguínea, la migración de macrófagos, la inflamación, la percepción del dolor, etcétera. En estos derivados se encuentran las *prostaglandinas*, *prostaciclinas*, *tromboxanos* y *leucotrienos*. Como el precursor de todos estos compuestos es un ácido graso de 20 átomos de carbono (principalmente, el araquídónico), a estos compuestos se les suele denominar *eicosanoídes* (el prefijo *eicosa* es el empleado en la nomenclatura sistemática para denotar 20 unidades o eslabones, de forma que el ácido saturado C_{20:0} es el *ácido eicosanoico*, también llamado *araquídico*).

6.5.1 Prostaglandinas y Prostaciclinas

Las prostaglandinas (PG) deben su nombre a que fueron aisladas por primera vez a partir de la próstata, pero están presentes en todos los tejidos del organismo y tienen una gran importancia en farmacología y medicina por sus múltiples efectos fisiológicos, incluso a muy bajas concentraciones, destacando entre los más de 1000 efectos descritos, los inflamatorios, la contracción del músculo liso (p. ej., en el útero durante el parto), la disminución de la presión sanguínea y la inhibición de la secreción gástrica. La cantidad total diaria sintetizada en los seres humanos oscila alrededor de 1 mg y su inactivación es muy rápida (de segundos a algún minuto). Los *antiinflamatorios*, tanto no esteroideos (*aspirina*) como esteroideos (*hidrocortisona*), inhiben su síntesis, y la amplísima utilización de estos fármacos indica claramente la gran cantidad de veces que se trata de interferir la acción de las PG.

Aunque metabólicamente se forman a partir de ácidos grasos poliinsaturados mediante varias modificaciones (véase el Cap. 15), estructuralmente, todas las PG pueden considerarse derivadas del *ácido 15-hidroxi-trans-Δ¹³-prostenoico*, un ácido graso de 20 carbonos con un grupo hidroxilo, un doble enlace y una particularidad muy característica de las PG: un enlace extra entre C8 y C12 que cicla una parte de la molécula en forma de ciclopentano (Fig. 6-3a).

Las familias de prostaglandinas se diferencian en los sustituyentes oxigenados presentes en el anillo de ciclopentano; y los miembros de cada familia, por el número y tipo de dobles enlaces sobre la cadena lineal. Así, las 4 familias principales, PGE, PGF, PGA y PGB, tienen la estructura de anillo ciclopentano que se representa en la Figura 6-3b. Dentro de cada familia, las prostaglandinas de la serie 1 tienen sólo el doble enlace sobre C13 (*trans*), ya presente en el ácido prostenoico; las de la serie 2 poseen otro enlace doble adicional en C5 (*cis*); y las de la serie 3, un tercer doble enlace (*trans*), sobre C17.

Aunque la ruta de síntesis de las PG es compleja y no abordable en este capítulo de enfoque estructural, durante su síntesis participan intermedios de interés por mostrar efectos biológicos propios y específicos en algunos tejidos, como los *endoperóxidos PGG* y *PGH* que se caracterizan por tener un puente dioxo (dos átomos de oxígeno entre los carbonos 9 y 11). Su vida media es muy corta por la inestabilidad de este tipo de puente oxigenado. Además, en tejidos específicos, como por ejemplo en las paredes de los vasos sanguíneos, evolucionan a otros compuestos relacionados, las *prostaciclinas (PGI)*, que son anticoagulantes, puesto que producen vasodilatación e inhiben la agregación plaquetaria.

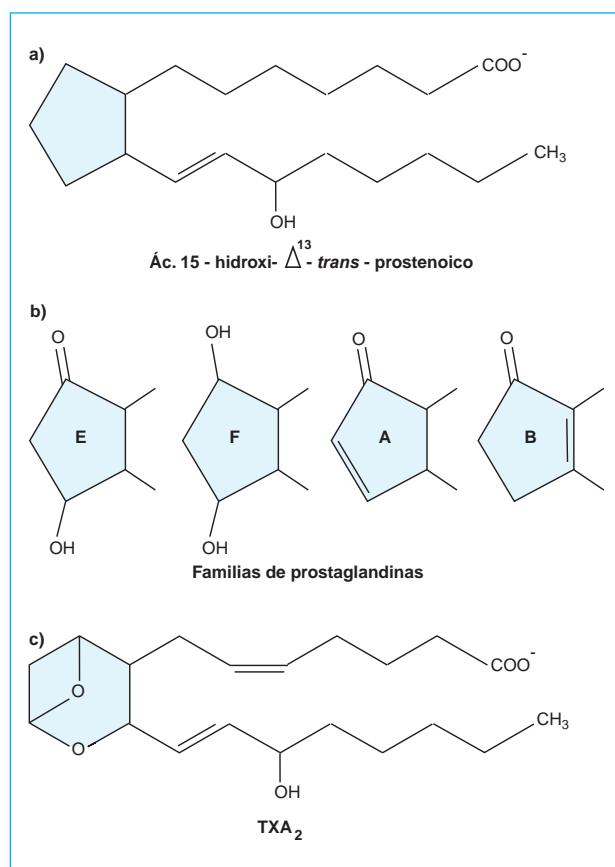


Figura 6-3. Estructura básica de PG y TX: (a) el ácido 15-hidroxi- Δ -trans-prostenoico, del que se puede considerar que derivan estructuralmente todas las PG; (b) estructura del anillo pentagonal de las 4 familias de PG (PGE, PGF, PGA y PGB); (c) estructura del principal tromboxano, el TXA₂.

6.5.2 Tromboxanos

A diferencia de las paredes vasculares, en las plaquetas la síntesis se dirige hacia otros derivados, los *tromboxanos*, que tienen efectos contrarios puesto que estimulan la agregación plaquetaria y la vasoconstricción. Los tromboxanos tienen al menos 1 puente de oxígeno estable incorporado entre los carbonos 9 y 11 del ácido 15-hidroxi- Δ^{13} -prostenoico, dando lugar como rasgo estructural diferenciador a un anillo oxano (un hexágono con 1 eslabón oxígeno). El más activo es el TXA₂ (Fig. 6-3c), que rápidamente pierde un puente de oxígeno en el pulmón, transformándose en el TXB₂, inactivo. La regulación de la actividad de estos compuestos, su síntesis y su vida media son factores clave debido a los efectos que producen, puesto que la agregación plaquetaria en una herida es clave para la hemostasia, pero la formación indiscriminada de trombos puede tener efectos mortales.

6.5.3 Leucotrienos

En los basófilos, los leucocitos polimorfonucleares (PMN) y los macrófagos, el ácido araquidónico sufre otras transformaciones, con alguna peroxidación, pero en posición distinta a las anteriores, cambios en la situación de los dobles enlaces, que se conjugan, y no se produce ciclación entre los carbonos 8 y 12. Se forman estructuras lineales, los *hidroperoxíacidos*. El principal se produce en la posición 5, formando el 5-HPETE (ácido 5-hidroperoxieicosatraenoico). Este compuesto evoluciona al primer *leucotrieno*, el LTA₄, precursor de los restantes. El nombre de leucotrieno deriva de su descubrimiento en los leucocitos y tener 3 dobles enlaces conjugados, que son absolutamente esenciales para su actividad biológica. Los leucotrienos se nombran con las iniciales LT seguidas de una letra mayúscula, característica de cada uno en orden alfabetico y un subíndice, indicando el número de dobles enlaces. Obsérvese que estos compuestos tienen cuatro dobles enlaces, a pesar de su nombre genérico trieno, pero el cuarto no está conjugado. El siguiente, LTB₄, se forma por hidroxilación en la posición 12, estimula la *adenilato ciclase leucocitaria* y tiene un efecto quimioatrayente (*quimiotáctico*) muy potente, dirigiendo los leucocitos hacia los centros de infección y facilitando la infiltración de estas células en las paredes de los capilares, por inflamación del tejido, y liberando enzimas lisosómicas.

Los restantes derivan de la adición de glutatión (véase el Cap. 7) en la posición 6 (LTC₄) y posterior hidrólisis secuencial del ácido glutámico para dar LTD₄ y de la glicina para dar LTE₄ (Fig. 6-4). Se denominan *mediadores de hipersensibilidad inmediata* por su poderoso efecto constrictor del músculo liso en el pulmón, la tráquea y el intestino y por el aumento que producen sobre la permeabilidad vascular. Por otra parte, son componentes participantes en la reacción lenta de la anafilaxia, que es una reacción alérgica poco habitual, pero peligrosa, porque produce insuficiencia respiratoria y descenso de la tensión sanguínea.

6.6 LÍPIDOS COMPLEJOS

6.6.1 Fosfolípidos

Los *fosfolípidos* son un amplio grupo de lípidos que contienen un grupo fosfato como característica estructural común. Por ello, son moléculas *anfipáticas*, con una zona apolar formada por las colas de los ácidos grasos y otra polar que contiene, el grupo fosfato y algún otro componente específico del tipo de fosfolípido. Están especialmente diseñados para formar la *bicapa lípídica* constitutiva de las membranas biológicas (véase el Cap. 10), tanto la plasmática como las que delimitan los diferentes orgánulos subcelulares, aunque también pueden cumplir otras funciones, como ser agentes ten-

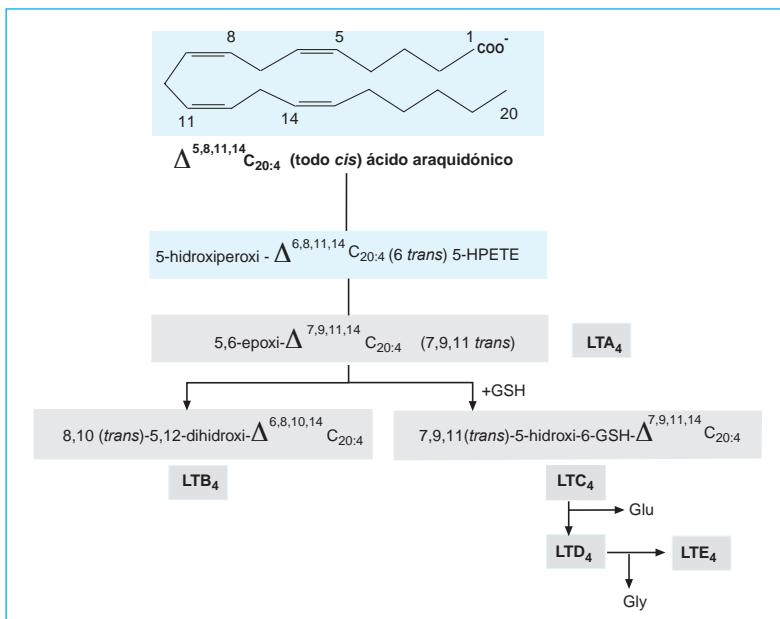


Figura 6-4. Esquema de la formación y estructura básica de los leucotrienos, a partir del ácido araquidónico. GSH es el tripéptido glutatión, y Glu y Gly los dos aminoácidos (véase la Fig. 7-6) que se liberan.

sioactivos. Dependiendo del tipo de alcohol que contenga su esqueleto estructural, existen dos clases de fosfolípidos: los *fosfoacilglicéridos* y las *esfingomielinas*.

Los fosfoacilglicéridos contienen glicerol esterificado en las posiciones 1 y 2 por dos cadenas de ácidos grasos y un grupo fosfato esterificando la posición 3. Esta estructura básica se llama *ácido L-fosfatídico* (Fig. 6-5). Además, los fosfolípidos contienen otro alcohol esterificando un segundo grupo ácido del grupo fosfato, así que pueden por tanto considerarse ésteres derivados del ácido fosfatídico.

La Tabla 6-2 muestra los tipos de fosfoacilglicéridos, en función del alcohol que esterifica el grupo fosfato. Las *lecitinas* son muy abundantes en la yema de huevo, utilizándose con fines dietéticos y cosméticos. Algunas lecitinas tienen funciones específicas muy importantes, como la dipalmitoil-lecitina, que constituye el principal componente del *tensioactivo pulmonar*. Este compuesto reduce la tensión superficial en los sacos alveolares, lo que impide la adhesión de las paredes y facilita la respiración. En su ausencia, el proceso puede ser

muy difícil, y este déficit es frecuente en niños prematuros. El problema es una de las causas que dan lugar al *síndrome disneico agudo o enfermedad de las membranas hialinas*, y puede causar la muerte por asfixia en un porcentaje apreciable (sobre el 15%) de las muertes que se producen en estos casos.

Cuando las lecitinas pierden el ácido graso de C₂, por acción de las enzimas presentes en los venenos de las serpientes, se obtienen las *lisolecitinas* (Fig. 6-6), que son poderosos agentes hemolíticos por su capacidad para disolver especialmente la membrana de los eritrocitos.

Las *cefalinas* se obtuvieron por primera vez a partir de la masa encefálica, pero son también ubicuas y existen en otros tejidos, tanto humanos como el hígado, como en microorganismos, en membranas de levaduras. Las de etanolamina son más abundantes que las de serina.

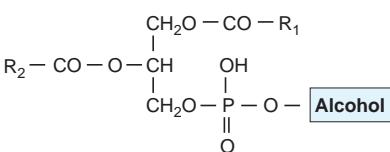


Figura 6-5. Estructura básica de un fosfoacilglicero, formado por la esterificación del ácido fosfatídico (en negro) por un alcohol (en azul) de los mostrados en la Figura 6.1(b).

Tabla 6-2. Tipos de fosfoacilglicéridos

Alcohol	Nombre sistemático	trivial
Colina	Fosfatidicolina	Lecitinas
Etanolamina	Fosfatidiletanolamina	Cefalinas
Serina	Fosfatidilserina	Cefalinas
Glicerol	Difosfatidilgliceroles	Cardiolipinas
Inositol	Fosfatidilinositoles	No existe

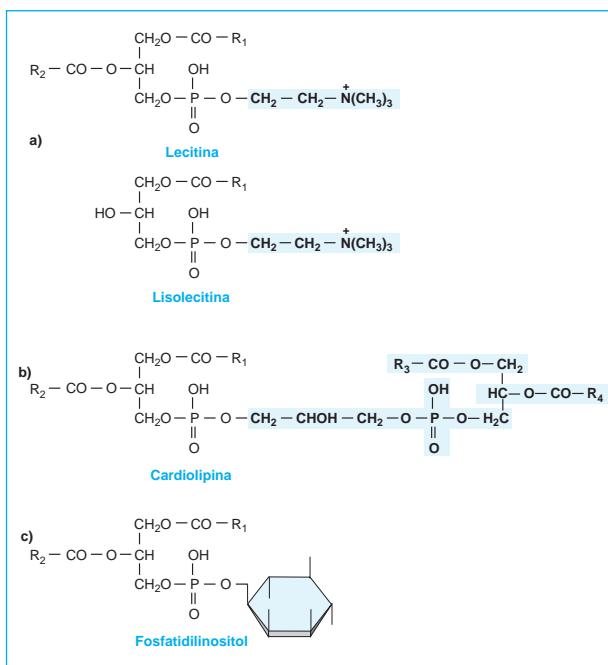


Figura 6-6. Estructura de algunos fosfoacilglicéridos. La raíz común del ácido fosfatídico se muestra en negro y el resto, en azul: (a) fosfatidicolina o lecitina y su derivado lisolecitina, con el C2 saponificado; (b) cardiolipina o fosfatidildiglicérido; (c) fosfatidilinositol.

Las *cardiolipinas* (Fig. 6-6) deben su nombre al hecho de que son muy abundantes en la membrana mitocondrial de las células del músculo cardíaco, y son especialmente ricas en ácidos grasos poliinsaturados. Su estructura es diferente a la del resto de los fosfoacilglicéridos, pues contiene dos moléculas de ácido fosfatídico unidas a la molécula central de glicerol. También existen trazas de fosfatidilgliceroles con la segunda molécula de glicerol no esterificada por otro fosfatidato, pero son componentes muy minoritarios de las membranas.

Los *fosfatidilinositosoles* son menos abundantes en las membranas biológicas, pero tienen una función reguladora importante, al ser fuente de los inositolfosfatos, mensajeros que intervienen en la regulación hormonal y en los mecanismos de transducción de señales hasta el interior celular (véase el Cap. 12). El más importante es el fosfatidilinositol-4,5-bifosfato (PIP_2) que, al hidrolizarse por una fosfolipasa, da lugar a DAG e IP_3 , dos sustancias claves en el proceso.

En cuanto a las *esfingomielinas*, contienen como alcohol *esfingosina*, además de un ácido graso en posición 2 del alcohol, y fosfato unido a la colina sobre el carbono 1 (Fig. 6-7). Es el único tipo de lípidos complejos que contiene a la vez esfingosina y fosfato, por lo que pertenece a los fosfolípidos, pero también a los esfingolípidos. Abunda en las vainas de

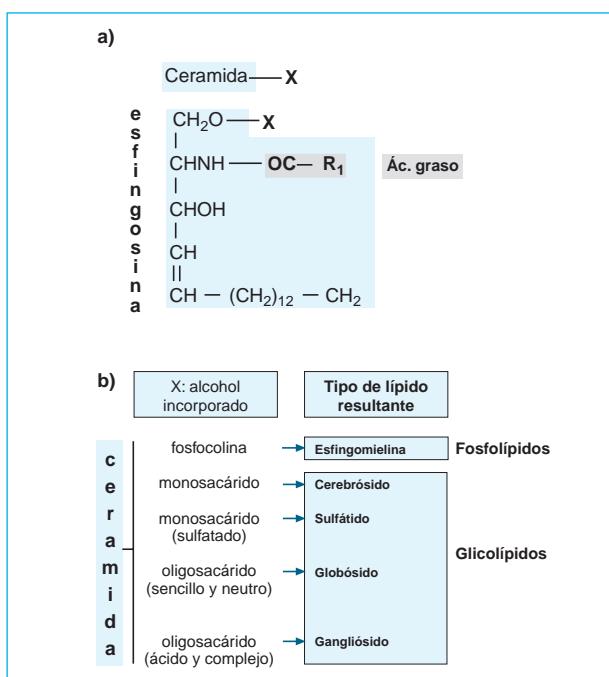


Figura 6-7. (a) Estructura general de las ceramidas (azul) y sus derivados por esterificación del C1 con un alcohol (X); (b) composición esquemática de las esfingomielinas y los diferentes glicolípidos, según el X unido al C1 de la ceramida.

mielina que forman las *células de Schwann* del sistema nervioso periférico, para el aislamiento de los axones neuronales (véase el Cap. 33).

La unión de la esfingosina y un ácido graso en C₂ se denomina genéricamente *ceramida*, y es la unidad estructural de las esfingomielinas y de todos los glicolípidos (Fig. 6-7b). El ácido graso unido al grupo amino es, con frecuencia, de cadena anormalmente larga (behénico, C₂₂ o lignocérgico, C₂₄), a diferencia de las cadenas de los fosfoacilglicéridos, que suelen ser de 16 a 20 eslabones.

6.6.2 Glicolípidos

Estos lípidos complejos tienen la unidad ceramida unida por un enlace glicosídico de configuración β , entre el hidroxilo de C1 de la esfingosina y un hidrato de carbono de complejidad variable. Son muy abundantes en las membranas del sistema nervioso central, sobre todo en la sustancia blanca. De acuerdo con la naturaleza de la fracción glucídica (Fig. 6-7b), se clasifican en:

1. *Cerebrósidos*: contienen sólo un monosacárido, generalmente D-galactosa, que le da hidrofilia a esa parte de la molécula, pero no carga neta.

2. *Sulfátidos o sulfolípidos*: son glicolípidos en los que el monosacárido contiene a su vez ésteres sulfato y, por tanto, son glicolípidos con carga negativa neta. El más abundante es el cerebrósido con D-galactosa sulfatada en el hidroxilo de C3.
3. *Globósidos*: contienen un oligosacárido relativamente simple. El más abundante contiene lactosa.
4. *Gangliósidos*: contienen un oligosacárido complejo y ramificado, con enlaces glicosídicos diversos, y siempre existe una o varias unidades siálicas, la más frecuente el *ácido N-acetilneuramínico*. La función o ventaja de los gangliósidos en las membranas celulares no está clara, pero, si es conocido que estos gangliósidos pueden unir toxinas bacterianas o incluso células bacterianas íntegras con relativa afinidad, y son las moléculas diana de infecciones como el cólera, el tétanos o el botulismo.

Por otra parte, la degradación de todos los lípidos que contienen esfingosina se realiza mediante enzimas lisosomales y es poco eficaz y difícil. La deficiencia de alguna de las enzimas necesarias da lugar a enfermedades hereditarias neuronales graves, con retraso mental severo y muerte temprana. Se denominan esfingolipidos, como la de Tay-Sachs o Niemann-Pick, y se describen mejor en el Capítulo 15.

6.6.3 Lípidos conjugados: lipoproteínas y lipopolisacáridos

Las *lipoproteínas*, aunque aquí clasificadas como lípidos complejos, tienen características muy distintas de los vistos hasta ahora. Aunque es un término que puede emplearse de forma amplia para definir a proteínas con algún componente lipídico unido covalentemente, como grupos miristilo o pentilo, se usa comúnmente para designar a asociaciones supra-

moleculares de moléculas de lípidos con otras de proteínas, llamadas apolipoproteínas. Las más importantes son las que existen en el plasma, que son esenciales para el transporte y se clasifican según su densidad, lo que es lo mismo que decir según el tipo de lípido principal que contienen. Como intervienen en el metabolismo de los lípidos, serán estudiadas también en el Capítulo 15.

Los *lipopolisacáridos* son menos abundantes y estructuralmente semejantes a los gangliósidos, pero con mayor complejidad y diversidad tanto en la fracción glicídica como en las moléculas lipídicas existentes. Se encuentran en las membranas celulares y tienen funciones muy variadas, aunque las principales están relacionadas con la transducción de señales y el reconocimiento celular.

6.7 LÍPIDOS ISOPRENOIDES

El *isopreno* es el 2-metilbutadieno (Fig. 6-8a), una molécula muy versátil. Sus dos dobles enlaces conjugados permiten que la ruptura de uno de ellos forme un radical bivalente, es decir, una especie reactiva con dos electrones libres, uno en cada extremo, que puede unirse a otras unidades por ambos. Entre unidades, los radicales producen una oligomerización o polimerización para dar lugar a una gran variedad de moléculas de importancia biológica, llamadas compuestos isoprenoideos. El mayor polímero del isopreno es el caucho o látex, formado en los árboles *Hevea* y en algunos *Ficus*, y que tiene grandes aplicaciones industriales, cuyo estudio no es apropiado en este contexto. Son derivados del isopreno con mayor interés bioquímico los terpenos o los esteroides; los primeros, en el mundo vegetal y los segundos, en el animal. Otros isoprenoideos de importancia biológica se muestran en el Recuadro 6-2.

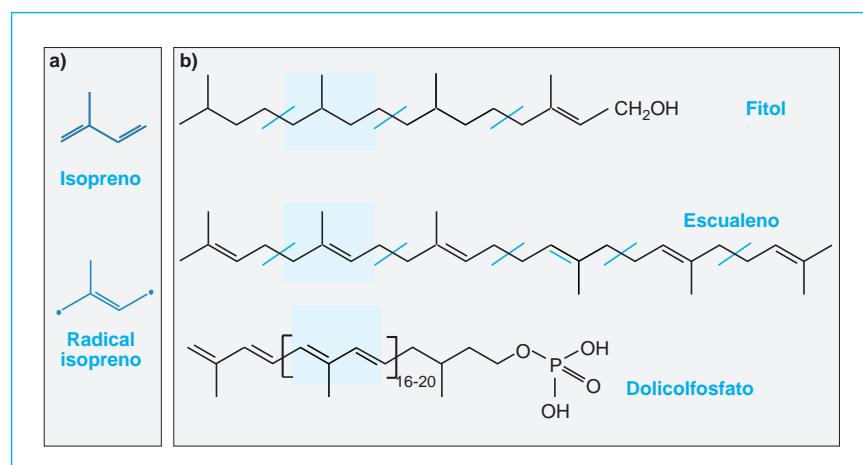


Figura 6-8. (a) Estructura del isopreno y su radical; (b) estructura de algunos terpenos de interés, como el fitol, escualeno y dolicol. La unidad isoprenoide se muestra en azul en las cadenas laterales.

Recuadro 6-2.

ISOPRENOIDES DE INTERÉS BIOLÓGICO, VITAMINAS LIPOSOLUBLES

Existe un buen número de *compuestos isoprenoides*, es decir, con estructuras derivadas del isopreno, que poseen un gran interés biológico por su acción como vitaminas antioxidantes o en procesos biológicos de suma importancia. Entre ellos, se pueden citar:

Retinol y carotenos

Se caracterizan por poseer un anillo no aromático y una cadena lateral con dobles enlaces conjugados, además de una función oxigenada en el extremo. Los *carotenos* son los pigmentos principales de muchos frutos y hortalizas, y sirven de precursores de los *retinoles* o *vitamina A*. Éstos tienen 20 carbonos y pueden oxidarse a retinales, el pigmento esencial que se une a las opsinas en las células fotorreceptoras de la retina (véase el Cap. 33) y hasta ácidos retinicos. Los retinoles son, pues, antioxidantes y participan, además de en la visión, en la formación del tejido epitelial.

lial, en la regulación del crecimiento y la diferenciación celular. Una vez completamente oxidados a ácidos retinoides, sus efectos pueden ser perjudiciales, lo que explica la precaución en la utilización de cremas rancias que contenían originalmente retinoles, pero que se enriquecen en ácidos oxidados por su envejecimiento.

unidades). Entre ellos se encuentran las *plastoquinonas* de la cadena de electrones fotosintética; la *ubiquinona* o *coenzima Q*, de la cadena de electrones mitocondrial; y la *vitamina K*, necesaria para la maduración de los factores de la coagulación sanguínea (Fig. 6-9).

Tocoferoles

Entre ellos destaca el *α-tocoferol* o *vitamina E*. Se caracteriza por poseer dos anillos condensados y una cadena lateral larga y saturada. Son antioxidantes, neutralizan radicales libres y facilitan la respiración celular. Su carencia produce esterilidad y fragilidad de las membranas, principalmente en el sistema nervioso central y los eritrocitos. Al igual que los retinoles, los tocoferoles son beneficiosos, en tanto conserven su actividad antioxidante.

Poliprenilquinonas

Son compuestos que contienen un anillo *p*-quinónico y una cadena lateral isoprenoide de longitud variable (4 a 10

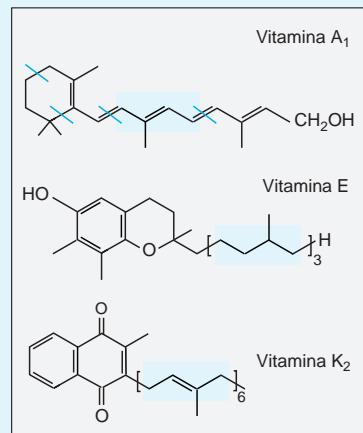


Figura 6-9. Estructura de las vitaminas de naturaleza isoprenoide: la A1, E y K₂. Una unidad de isopreno se muestra en azul en las cadenas laterales.

6.7.1 Terpenos

Estos compuestos son oligómeros, lineales o cílicos, formados por varias unidades de isopreno con mínimas modificaciones, de forma que mantienen su naturaleza de hidrocarburos, o bien, se modifican con algún grupo hidroxilo para formar alcoholes. Su olor constituye el aroma de muchas plantas o frutos, y tienen un número de átomos de carbono que siempre es múltiplo de cinco. Los más simples son los *monoterpenos*, de 10 átomos de carbono formados por dos unidades isoprenoides, como el *geraniol* y el *limoneno*. Los de tres unidades o 15 átomos de carbono se llaman *sesquiterpenos*, como el *farnesol*. Los *diterpenos* tienen 20 carbonos, y el más importante es el *fitol*, el alcohol de la clorofila. Entre los *triterpenos* se encuentra el *escualeno*, un hidrocarburo que se obtiene del hígado de los escuálidos y que es precursor del *colesterol*. Asimismo, es necesario mencionar los *dolicoles*, una familia de terpenos que tienen entre 16 y 20 unidades de isopreno. Se encuentran en las membranas hidrófobas del retículo endoplásmico y el aparato de Golgi de todas las células,

fosfatados en un extremo, y sirven de transportadores de glicoproteínas inmaduras durante la glicosilación de éstas. Algunos de estos grupos terpenos se unen a proteínas, como las proteínas *Ras*, en un proceso llamado *prenilación*, que parece participar en el control del crecimiento celular.

6.7.2 Esteroides

Este es el grupo más importante de sustancias isoprenoïdes, aunque su naturaleza triterpénica no se deduce tan fácilmente y a primera vista por observación de su estructura, como, por ejemplo sucede en el escualeno, debido a la cantidad y variedad de enlaces que ciclan y dan lugar a una estructura bastante rígida, formada por 4 anillos condensados y que se llama *ciclopantanoperhidrofenantreno*. Contiene tres núcleos bencénicos (fenantreno) totalmente hidrogenados con un ciclopentano adosado. La numeración de los 17 átomos de carbono que lo constituyen es específica (Fig. 6-10). Sobre el sistema de anillos condensados, se encuentran los siguientes elementos estructurales:

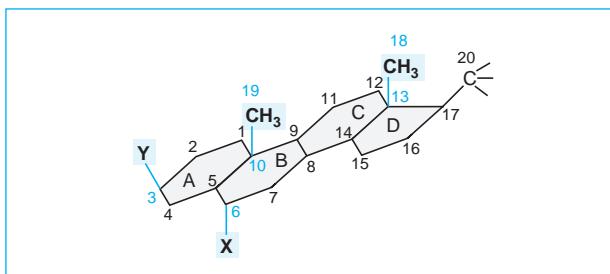


Figura 6-10. Estructura básica, numeración y posición de los 2 metilos característicos y otros posibles sustituyentes (*X*, en α e *Y*, en β) del anillo de ciclopantanoperhidrofenanreno del núcleo esteroide.

1. Dos grupos metilo sobre los carbonos 13 y 10, numerados como C18 y C19, respectivamente. Están presentes en todos los esteroides, excepto en los estrógenos, que sólo contienen el metilo C18.
2. Una cadena lateral hidrocarbonada, más o menos compleja, sobre el carbono 17, numerada de C20 en adelante. Su longitud varía desde 10 carbonos, en algunos esteroides, hasta su ausencia total en las hormonas sexuales.
3. Sustituyentes oxigenados, como grupos hidroxilo y carbonilo, y dobles enlaces en posiciones variables del anillo, según la naturaleza del esteroide.

En la estructura esteroide existen varios carbonos quirales, por lo que el número de enantiómeros posibles es muy grande. Por ejemplo, la molécula de colesterol tiene 8 carbonos quirales y, por tanto, 2^8 (256) estereoisómeros posibles. En la naturaleza no existen todos los estereoisómeros teóricamente posibles. Por ejemplo, en todos los esteroides conocidos, los metilos C18 y C19 se sitúan orientados hacia el espacio superior del plano medio de la estructura de ciclopantanoperhidrofenanreno. Respecto al resto de los posibles sustituyentes, los que se orientan hacia la misma parte del plano que esos metilos, en posición *cis*, son sustituyentes β , mientras que los que se orientan en posición *trans* con los metilos C18 y C19 se llaman α (Fig. 6-10).

Los esteroides se pueden clasificar, desde una mayor a una menor complejidad en su cadena lateral, en: *esteroides*, familia de la *vitamina D*, *ácidos biliares* y sus conjugados, *corticoesteroides* y *hormonas sexuales*. Esta clasificación estructural da lugar a grupos con funciones biológicas distintas.

Los esteroides contienen siempre algún grupo alcohol, al que deben su terminación acabada en *-ol*. El más importante es el *colesterol* (Fig. 6-11a), con un hidroxilo en posición 3- β , un doble enlace en posición 5 y una cadena hidrocarbonada de

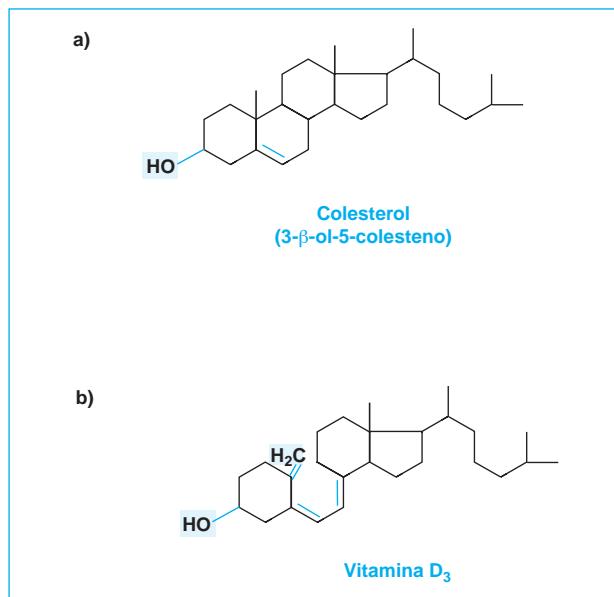


Figura 6-11. Estructura de un esterol (a, colesterol o 3- β -ol-colesteno) y un derivado de la familia de la vitamina D (b, provitamina D₃, con el anillo B abierto e insaturaciones conjugadas).

8 carbonos sobre el carbono 17. Es un constituyente esencial de la membrana de todas las células animales, y precursor de los otros esteroides. Tiene una gran relación con las lipoproteínas y con enfermedades, como la *hipercolesterolemia* y la *aterosclerosis* (véase el Cap. 15). Otros esteroides de importancia, relacionados con el colesterol, son el *7-deshidrocolesterol* (con un doble enlace adicional en el carbono 7), precursor de la vitamina D, y el *ergosterol* o esterol de las levaduras, que tiene una cadena lateral de 9 carbonos.

Los derivados de la *vitamina D* se forman por acción de la luz UV sobre los esteroides. Su característica estructural principal es la abertura del anillo B, con formación de un doble enlace entre los carbonos 10 y 19. La cadena lateral que llevan sobre el C17 es igual a la del esterol del que derivan. Así, la estructura de la *vitamina D₃* o *colecalciferol* se forma a partir del *7-deshidrocolesterol* (Fig. 6-11b); y la *vitamina D₂* a partir del *ergosterol*. A partir de estos compuestos básicos se sintetizan otros derivados, por hidroxilaciones sucesivas en distintas posiciones, como la C1, C21, C22 y C25, que se llaman genéricamente *colecalciferoles*. Estos compuestos regulan el metabolismo del calcio y el fosfato y, por tanto, la formación y reabsorción ósea (véase el Cap. 35). Su carencia ocasiona una serie de enfermedades relacionadas con los huesos, entre las que destaca el *raquitismo*.

El siguiente grupo de esteroides son los *ácidos biliares*, que poseen como características específicas:

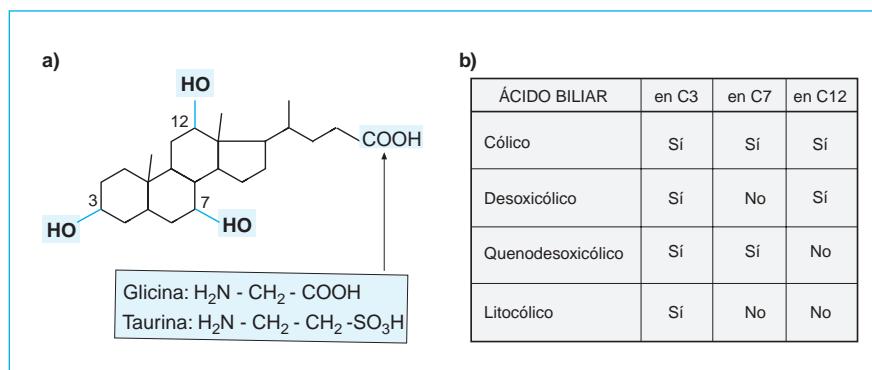


Figura 6-12. (a) Estructura del ácido cílico y los aminoácidos que amidan el carboxilo de su cadena lateral para dar lugar a los glico- y tauroconjugados. (b) Tabla con el nombre de los otros ácidos biliares y la posición de sus grupos hidroxilo, siempre en α .

1. Una cadena lateral lineal de 5 carbonos que finaliza con un grupo carboxilo. En el organismo humano, la cantidad de ácidos biliares libres es muy pequeña, porque unen a su grupo carboxilo glicina o taurina, alargando la cadena lateral y formando los derivados *glico* y *tauro* (Fig. 6-12).
2. Uno o varios grupos hidroxilo que, a diferencia de lo que sucede en los esteroides, siempre tienen configuración α . Estos hidroxilos le confieren su carácter anfipático, esencial para su principal función de emulsionar las grasas de la dieta y facilitar la digestión intestinal por la acción de enzimas digestivas, como las lipasas y esterasas (véase el Cap. 11). El *ácido cílico* es el más soluble, por su mayor contenido en grupos hidroxilo, mientras que el *ácido litocólico* es el más insoluble, y el que con mayor facilidad contribuye a la formación de cálculos en la vesícula biliar. No obstante, la mayor parte de esos cálculos contiene colesterol sin modificar, que forma cristales en la bilis por su baja solubilidad.

Los *corticoesteroides* o *adrenocorticoides* se forman en la corteza suprarrenal. Regulan una gran cantidad de procesos de enorme interés fisiológico. Sus principales características estructurales son:

1. Un grupo cetónico en la posición 3 y un doble enlace en la posición 4.
2. Una cadena lateral corta (sólo 2 carbonos) y, generalmente, bastante oxigenada.
3. Algún otro grupo hidroxilo en posiciones variables, siendo las más comunes C11 y C17 (Fig. 6-13). El *cortisol*, la *corticosterona* y la *aldosterona* son corticoesteroides importantes. La segunda no tiene grupo hidroxilo en C17 y la tercera es un mineralcorticoide. Además de los corticoesteroides, existen otros esteroides con las mismas características

estructurales, como la cadena lateral de sólo 2 carbonos, caso de la progesterona, formada en el cuerpo lúteo.

Las hormonas sexuales son de dos tipos: los *andrógenos*, o masculinas, y los *estrógenos*, o femeninas. En ambos casos no existe cadena lateral en C17. El anillo A de los estrógenos es aromático y no contiene grupo metilo en C10, por lo que sólo tienen 18 carbonos. Los representantes más importantes de cada grupo son la *testosterona* y el *17- β -estradiol*, respectivamente (Fig. 6-13b-c). Ambos tienen funciones oxigenadas en las posiciones C3 y C17. En los estrógenos, el hidroxilo en C3 es fenólico y tiene características ácidas que diferencian estos esteroides del resto.

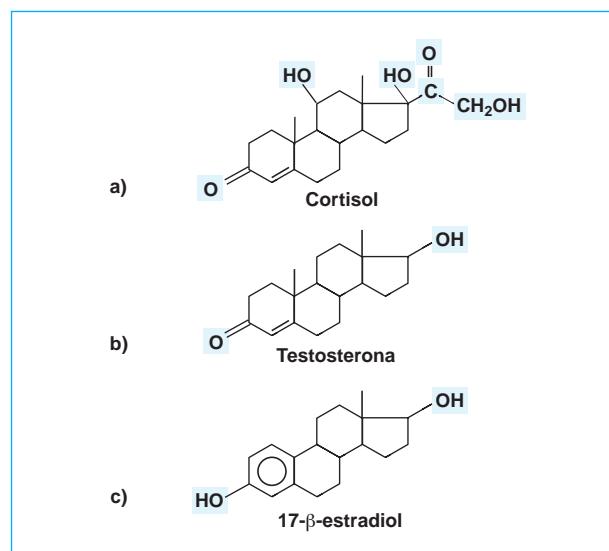


Figura 6-13. Estructura de un ejemplo de corticoesteroides (a, cortisol), andrógenos (b, testosterona) y estrógenos (c, 17- β -estradiol). Obsérvese la reducción o ausencia de la cadena lateral sobre el C17, los sustituyentes característicos en azul y la aromatización del anillo A en los estrógenos.

RESUMEN

- Los lípidos son biomoléculas heterogéneas que cumplen principalmente funciones de reserva energética y de componentes estructurales de membranas. Tienen en común una parte hidrofóbica, que los hace poco solubles en agua. Se clasifican en 3 grandes grupos, (a) *simples*, constituidos por las unidades ácidas y derivados, alcoholes y los ésteres de éstos; (b) *complejos*, de características anfipáticas, que incluyen a los fosfolípidos, glicolípidos y lípidos conjugados; (c) *isoprenoïdes o insaponificables*, que incluyen a terpenos y aromas, esteroides y vitaminas liposolubles.
- Los ácidos grasos más abundantes tienen un número par de carbonos, entre 14 y 20. Se abrevian con la notación ($\Delta^{i,j\dots}$) C_{m,n}, donde m:n señalan el número total de carbonos y de insaturaciones y los superíndices ^{i,j} indican sus posiciones. Los dobles enlaces nunca son conjugados y tienen la configuración *cis*. Otra nomenclatura para los ácidos insaturados se establece por la distancia del doble enlace más próximo al carbono ω terminal. Los alcoholes grasos son (a) ubicuos, como el glicerol y la esfingosina y (b) de menor abundancia, como los de cadena larga presentes en ceras y los cortos presentes en los fosfoacilglicéridos.
- Los acilglicéridos o grasas neutras son moléculas de reserva energética, ésteres del glicerol y los ácidos grasos. Los naturales contienen más del 99% de mezclas de triacilglicéridos. Las prostaglandinas, las prostaciclinas, los tromboxanos y los leucotrienos son derivados de ácidos grasos con importantes efectos fisiológicos. Las primeras contraen el músculo liso, disminuyen la presión sanguínea e inhiben la secreción gástrica. Las prostaciclinas producen vasodilatación e inhiben la agregación plaquetaria en las paredes de los vasos sanguíneos, mientras que los tromboxanos, en las plaquetas, tienen efectos contrarios. Los leucocitos producen leucotrienos, quimioatrayentes y mediadores de hipersensibilidad inmediata, por su efecto constrictor del músculo liso y por el aumento de la permeabilidad vascular.
- Los fosfolípidos están diseñados para formar la bicapa lipídica por su anfipatía. Los fosfoacilglicéridos tienen glicerol y las esfingomielinas esfingosina. Entre los primeros están las lecitinas, cefalinas, cardiolipinas y fosfatidilinositoles, según el alcohol secundario que esterifica al fosfato. La unión de esfingosina y un ácido graso en C2 se denomina ceramida, y es la unidad estructural de todos los glicolípidos. Estos lípidos, muy abundantes en el sistema nervioso, se clasifican en cerebrósidos, sulfátidos, globósidos y gangliósidos. Las esfingolipidosis son enfermedades hereditarias relacionadas con la degradación de los esfingolípidos.
- El isopreno o 2-metilbutadieno polimeriza para dar lugar a isoprenoides, como los terpenos, aromas de muchos frutos o plantas, o ambos. Pero, en los animales, el grupo más importante de isoprenoides son los esteroides. Se clasifican en esteroles, vitamina D, ácidos biliares, corticoesteroides y hormonas sexuales. Los esteroles contienen un grupo alcohol. El más importante es el colesterol. Los derivados de la vitamina D se forman por acción de la luz UV, que abre el anillo B. Los ácidos biliares poseen uno o varios grupos hidroxilo y una cadena lateral ácida que une glicina o taurina. Los corticoesteroides o adrenocorticoides tienen una cadena lateral oxigenada y corta. Las hormonas sexuales son de dos tipos: andrógenos, o masculinas, y estrógenos, o femeninas. El anillo A de los estrógenos es aromático.

EVALUACIÓN

1. (B). Respecto al ácido graso llamado EPA (ácido eicosapentaenoico, $\Delta^{5,8,11,14,17} \text{C}_{20:5}$):
1. Contiene 20 átomos de carbono.
 2. Contiene dobles enlaces conjugados.
 3. Es un ácido poliinsaturado de la familia de los $\omega 3$.
 4. Es previsible que se encuentre en alta concentración en las grasas animales.
- a b c d e
2. (B). La testosterona:
1. Es un lípido estructural.
 2. Contiene esfingosina.
 3. Contiene una cadena lateral de dos carbonos sobre el C17.
 4. Contiene un grupo cetónico sobre el C5.
- a b c d e
3. (B). Sobre PG, TX y LT:
1. Todas las PG contienen un grupo hidroxilo en el C15.
 2. Las PG estimulan la contracción del músculo liso.
 3. Los TX estimulan la agregación plaquetaria.
 4. Los LT activan la quimiotaxis de los leucocitos y las enzimas lisosomales
- a b c d e
4. (B). Asociaciones entre lípido y función que desempeña:
1. Triacilglicerol / lípido de reserva.
 2. Esfingomielina / componente estructural de las membranas del sistema nervioso.
 3. Sal biliar / lípido emulsionante.
 4. Lipoproteínas / moléculas de transporte plasmático.
- a b c d e
5. (A). ¿Cuál de los siguientes lípidos no es de naturaleza isoprenoide?
- a. Progesterona.
 - b. β -Caroteno.
 - c. Retinol.
 - d. Dolicol.
 - e. Ceramida.
6. (B). La esfingosina es un alcohol graso que contiene en su molécula:
1. Un doble enlace.
 2. Un grupo amino.
 3. Dos grupos hidroxilos.
 4. 18 átomos de carbono.
- a b c d e
7. (B). En los triacilglicéridos, por regla general:
1. Existe un mayor predominio de ácidos grasos insaturados en el carbono 2 de la glicerina.
 2. En el carbono 3 no pueden existir ácidos grasos insaturados.
 3. En el carbono 1 abundan más los ácidos grasos saturados.
 4. En el carbono 2 no pueden existir ácidos grasos saturados.
- a b c d e
8. (A). El tromboxano A₂:
- a. Es un derivado de PG, con vida media larga.
 - b. Es el principal producto de las PG en todas las células.
 - c. Es un metabolito de la PGE₂, sin actividad biológica.
 - d. Posee un puente de oxígeno entre los carbonos 9 y 11.
 - e. En su estructura sólo hay un anillo pentagonal.
9. (A). Las lecitinas son:
- a. Fosfatidilinositoles.
 - b. Difosfatidilglicéridos.
 - c. Fosfatidilserinas.
 - d. Fosfatidilcolinas.
 - e. Fosfatidiletanolaminas.
10. (A). No es un esteroide:
- a. Ácido glicoquenodesoxicólico.
 - b. Testosterona.
 - c. Aldosterona.
 - d. Ácido esteárico.
 - e. Vitamina D₂.
11. (C). El colato es una sal biliar con mayor poder emulsionante y solubilidad que el litocolato PORQUE presenta en su estructura más grupos hidroxilos en posición α sobre el anillo esteroide.
- a b c d e
12. (B). Relaciones entre terpenos y su tamaño molecular:
1. Fitol, monoterpeno.
 2. Escualeno, triterpeno.
 3. Geraniol, diterpeno.
 4. Limoneno, monoterpeno.
- a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Hakamori S: Glicoesfingolípidos. *Inv y C* 1986; julio: 14-23.
- Libby P: Una nueva teoría sobre la aterosclerosis. *Inv y C* 2002; julio: 14-23.
- McNamara D: Dietary fatty acids, lipoproteins and cardiovascular disease. *Adv Food Nutr Res* 1999; 36: 253-274.
- Mead JF, Alfin-Slater RB, Howton DR *et al*: *Lipids: Chemistry, Biochemistry and nutrition*. New York. Plenum Press, 1986.

AMINOÁCIDOS Y PROTEÍNAS

7

7.1 INTRODUCCIÓN

Entre los elementos químicos primarios de los organismos vivos, el nitrógeno es el que más limita su crecimiento. En los microorganismos existen sistemas detectores de la disponibilidad de nitrógeno en el medio externo, que regulan la multiplicación celular. En las plantas, la asimilación de nitrógeno (aproximadamente, la cantidad de nitrógeno absorbida del suelo) es un factor clave que controla muchos procesos metabólicos relacionados con la biosíntesis de las moléculas estructurales. En los animales, entre ellos, los seres humanos, el *balance de nitrógeno* (diferencia diaria entre el ingerido y el excretado) es uno de los factores más utilizados para controlar de un modo sencillo la nutrición y el crecimiento.

Esa relación entre crecimiento y cantidad de nitrógeno disponible es debida a que las biomoléculas más importantes para el desarrollo y proliferación de los organismos, las proteínas y los ácidos nucleicos, son nitrogenadas. En este capítulo se describen la estructura y las propiedades de las proteínas, empezando por sus unidades básicas, los aminoácidos. Se harán algunas referencias a otras biomoléculas relacionadas con los aminoácidos que derivan de ellos y funcionan en el organismo como metabolitos, hormonas y neurotransmisores. En el capítulo siguiente se tratará el otro gran grupo de biomoléculas nitrogenadas, las bases nitrogenadas y sus derivados, nucleótidos y ácidos nucleicos.

7.2 CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES DE LOS AMINOÁCIDOS

Los *aminoácidos* son moléculas que, como indica su nombre, contienen, al menos, un grupo amino ($-\text{NH}_2$) y otro ácido carboxílico ($-\text{COOH}$). Existen algunas excepciones que, a pesar de no ser aminoácidos en el sentido estricto de la palabra, a menudo se consideran pertenecientes a este grupo, como la *taurina*, que contiene un grupo ácido sulfónico ($-\text{SO}_3\text{H}$), o la *prolina*, que contiene un grupo imino o amino secundario ($-\text{NH}-$). En cualquier caso, la existencia de dos grupos, uno básico y otro ácido, les confiere dos características esenciales para su función:

- a) Cuando están libres son sustancias anfóteras, es decir, pueden comportarse como ácidos y como bases.
- b) Son bifuncionales y, por tanto, pueden unirse para formar polímeros o cadenas polipeptídicas de longitud variable.

La posición relativa de los dos grupos característicos permite clasificar estas biomoléculas. El átomo de carbono al que se encuentra unido el carboxilo se llama carbono α ; de ahí en adelante, el resto de los átomos de carbono de la molécula sigue un orden alfabético: β , γ , δ , etc. Con esta notación, si el grupo amino se encuentra también sobre el mismo átomo de $\text{C}\alpha$, se obtienen α -aminoácidos (Fig. 7-1); si se encuentra sobre el siguiente, β -aminoácidos y, así, sucesivamente. Todos los aminoácidos proteicos son α -aminoácidos.

7.2.1 Naturaleza de los aminoácidos proteicos

Como se indicó anteriormente, todos los aminoácidos proteicos tienen los grupos amino y carboxilo sobre un mismo carbono (el $\text{C}\alpha$) que, a su vez, completa sus cuatro sustituyentes con un átomo de H y un radical orgánico que constituye la llamada cadena lateral (Fig. 7-1). Así, de los cuatro

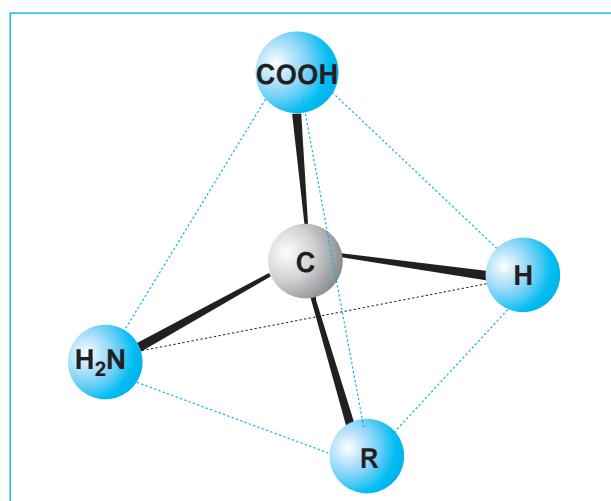


Figura 7-1. Estructura tetraédrica del carbono α asimétrico de un L-aminoácido.

sustituyentes sobre ese $\text{C}\alpha$, sólo la cadena lateral es específica para cada uno de ellos. De acuerdo con las propiedades y la naturaleza química de esta cadena, los aminoácidos se suelen dividir en cuatro grupos: *apolares o hidrofóbicos*, *polares con carga neutra*, *aniónicos* o ácidos, y *cationicos* o básicos.

Los *apolares* tienen cadenas laterales de naturaleza básicamente hidrocarbonada, o contienen algún otro elemento químico (un átomo de S o N) en un grupo que es compatible con el mantenimiento de la apolaridad. En este grupo, de menor a mayor complejidad, se pueden incluir: *glicina*, *alanina*, *valina*, *leucina*, *isoleucina*, *prolina*, *fenilalanina*, *tryptófano* y *metionina* (Fig. 7-2). Debe destacarse que:

- a) La apolaridad o hidrofobia del aminoácido es más elevada cuanto más voluminosa sea la cadena lateral. Por ello, la glicina, a pesar de tener una cadena lateral no polar (sólo un hidrofóbico), no es propiamente un aminoácido hidrofóbico, pues el pequeño tamaño de dicha cadena hace que prevalezca el carácter polar de los grupos amino y carboxilo. En otras palabras, el carácter más o menos hidrofóbico de un aminoácido

libre es un balance entre la contribución de su cadena lateral y la de los grupos α -amino y α -carboxilo. Si la cadena lateral es pequeña, aunque sea hidrofóbica, su contribución a la molécula completa no es suficiente para hacer hidrofóbico el aminoácido en estado libre.

- b) La prolina es realmente un *iminoacido*, ya que la cadena lateral es cíclica, y contiene 3 eslabones metíleno ($-\text{CH}_2-$) unidos al $\text{C}\alpha$ y al grupo amino que, en tal caso, se debe denominar imino. Ello le confiere ciertas características exclusivas, tanto si se encuentra aislado, como si está formando parte de cadenas peptídicas que derivan de esa rigidez de la cadena por el hecho de ser cíclica.

Los *aminoácidos polares* con carga neutra poseen en sus cadenas laterales grupos hidrofílicos que aumentan su solubilidad. Pertenecen a este grupo los hidroxilados *serina*, *treonina* y *tirosina*, el tiólico *cisteína*, y los amidados *asparagina* y *glutamina* (Fig. 7-2).

Los *aminoácidos aniónicos* tienen en su cadena lateral un segundo grupo carboxilo que les confiere una carga negativa y características ácidas: son los *ácidos aspártico* y *glutámico*.

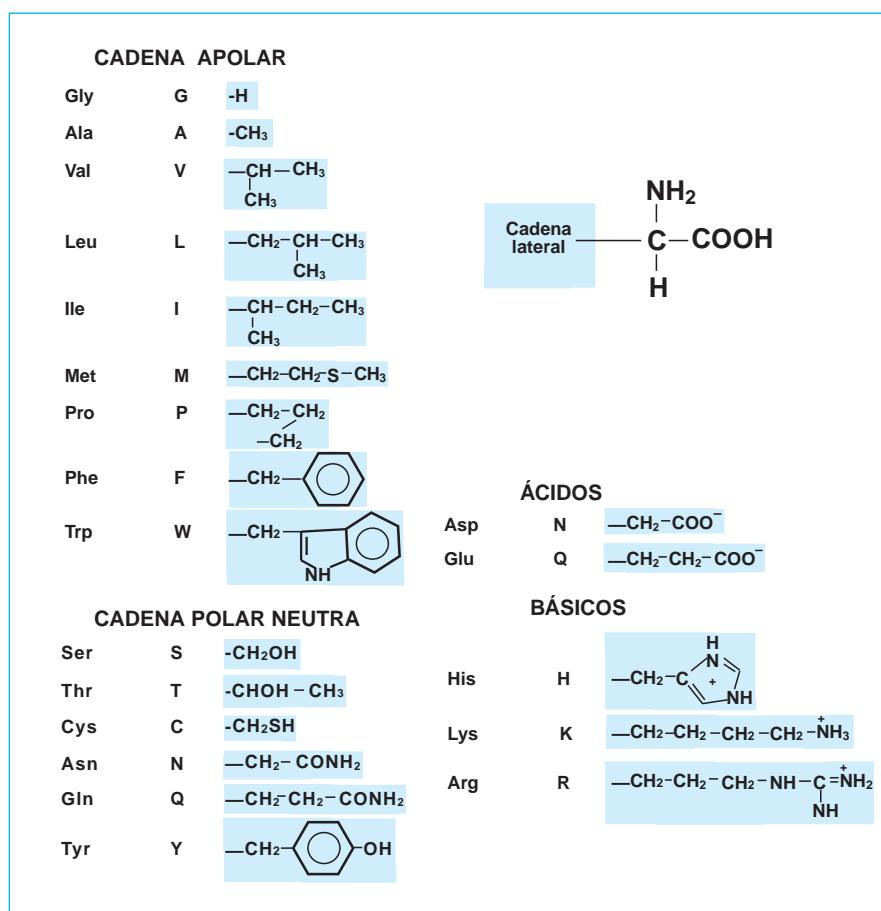


Figura 7-2. Abreviaturas de 3 y de 1 letra de los 20 aminoácidos proteicos, así como estructura de las cadenas laterales. La clasificación en los 4 bloques se basa en la naturaleza de dicha cadena.

co; en los catiónicos, que son la *arginina*, *lisina* y, en menor grado, la *histidina*, existe en su cadena lateral un grupo nitrogenado que les confiere una carga positiva y características básicas.

En todos los casos, el nombre de estos 20 aminoácidos puede abreviarse con un código de tres letras o todavía más, con sólo una letra (Fig. 7-2). Este último código de una letra se utiliza para las secuencias proteicas depositadas en las principales bases de datos biológicos, donde el tamaño del archivo es un factor de gran importancia por la inmensa cantidad de información que han de almacenar (GenBank, Swiss Prot, etc.).

7.2.2 Aminoácidos proteicos minoritarios

Además de los 20 aminoácidos proteicos descritos, existen en algunas proteínas particulares otros aminoácidos relacionados con los anteriores, que contienen modificaciones estructurales que las adaptan para cumplir mejor la función fisiológica que desempeñan en el organismo donde se encuentran. Actualmente, se conoce la existencia de dos casos excepcionales donde la incorporación de esos aminoácidos a las proteínas es codificada directamente en el ARN por un codón que en la inmensa mayoría de los casos corresponde con un codón de terminación (véase el Cap. 21). Son la *selenocisteína* (codificada bajo ciertas condiciones por un codón UGA) y la *pirrolisina* (codificada por el codón UAG en ciertas *arqueas*). Pero, además de estos 22 aminoácidos, existe en las proteínas una gran cantidad de aminoácidos que no se incorporan a ellas directamente por estar codificados en un triplete del código genético, sino que se forman por modificaciones de los 20 proteicos principales en *reacciones post-traduccionales* (véase el Cap. 26). La variedad de estas modificaciones es muy amplia y su función es descrita mejor en los temas dedicados a las proteínas específicas que las tienen, pero, las más abundantes, ordenadas por orden alfabético y en función de su naturaleza química, son:

Acetilaciones. Se producen sobre el grupo amino. Son frecuentes en la cadena lateral de las lisinas existentes en las histonas, formando *acetilisina*.

Carboxilaciones. La más importante da lugar al ácido *γ-carboxiglutámico*, que forma parte de varios factores proteicos de la coagulación sanguínea y de las proteínas del esmalte.

Ciclaciones. La más común es la que se produce entre el grupo amino y el carboxilo de la cadena lateral del ácido glutámico, produciendo ácido *piroglutámico*, presente en el inicio de muchas proteínas con función protectora.

Desaminaciones de la cadena lateral de lisina, para dar lugar a *lisinal* (también llamado *al-lisina*), que posee un grupo aldehído en la cadena lateral y puede formar enlaces

covalentes de entrecruzamiento (véase entrecruzamiento del colágeno, en el Cap. 34).

Dimerizaciones. El ejemplo más representativo es la *cistina*, formada por la unión mediante un puente disulfuro de dos cisteínas, a través de sus grupos tioles. La *cistina* se forma espontáneamente, tanto en estado libre, como formando parte de las proteínas. Los puentes disulfuro son esenciales en cientos de proteínas para el mantenimiento de las estructuras terciaria y cuaternaria.

Fosforilaciones. Se producen esterificando con fosfato un hidroxilo de la cadena lateral del aminoácido, lo que da lugar a derivados como *fosfoserina*, *fosfotreonina* y *fosfotirosina*. Las fosforilaciones suelen ser reversibles y constituyen uno de los procesos más comunes para regular la actividad de enzimas, factores de crecimiento, receptores celulares, la transcripción de genes, entre otros.

Hidroxilaciones. Las más frecuentes son las que se dan en las posiciones 3 y 4 de la prolina, dando lugar a *hidroxiprolinas*, muy frecuentes en el colágeno.

Metilaciones. Se producen sobre el N de cadenas laterales, como es el caso de la *1-* y la *3-metilhistidina* y las *ε-metilisinas*. Son frecuentes en las proteínas musculares.

Hipermodificaciones. En este grupo incluimos cualquier otra modificación. Destacan las hormonas tiroideas (*triyodotironina* y *tiroxina*, o T_3 y T_4), que son dímeros yodados de la *tirosina*, presentes en la *tiroglobulina*, y la *desmosina* e *isodesmosina*, que son aminoácidos derivados de la condensación de cuatro moléculas de lisina, encontradas en la elastina (véase el Cap. 34) y alguna otra proteína de las articulaciones y los tendones.

7.2.3 Aminoácidos no proteicos

En la naturaleza existe un gran número de aminoácidos que no se incorporan a las proteínas, pero desempeñan otras funciones específicas en el metabolismo celular. Siguiendo con la clasificación en α , β , γ -aminoácidos, etcétera, los principales son:

α -aminoácidos. Frecuentemente, relacionados con el metabolismo de los proteicos, participando bien en la síntesis o bien, en la degradación de éstos. Suelen contener algún eslabón metíleno más en la cadena lateral, es el caso de *homoserina* y *homocisteína*, o algún eslabón menos, como la *ornitina* respecto a la lisina. La *ornitina* y la *citrulina* son intermedios del ciclo de la urea (véase el Cap. 16).

β -aminoácidos. El más común es la *β-alanina*, que forma parte de la molécula del *ácido pantoténico*, una vitamina.

γ -aminoácidos. Como el *ácido γ-aminobutírico* (GABA), existente en el sistema nervioso, donde funciona como neurotransmisor inhibitorio (véase el Cap. 33).

7.2.4 Propiedades de los aminoácidos

Los aminoácidos presentan propiedades que permiten explicar su comportamiento, identificación y separación, así como las características que confieren a las proteínas. Tales propiedades están relacionadas con su *actividad óptica, comportamiento anfótero, absorbancia ultravioleta y reacciones coloreadas*.

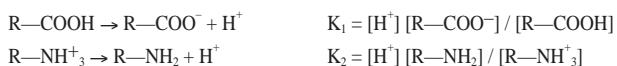
7.2.4.1 Estereoisomería

Excepto la glicina, los restantes aminoácidos proteicos tienen cuatro sustituyentes distintos sobre el C_α (Fig. 7-1), lo que hace que ese carbono sea asimétrico o *quiral* (véase el Cap. 5), e implica la existencia de al menos dos *estereoisómeros*. La inmensa mayoría de los aminoácidos naturales es de la serie L, y sólo existen trazas de aminoácidos D en las paredes bacterianas y en algunos fragmentos muy peculiares y minoritarios de las proteínas. Los L-aminoácidos tienen su grupo amino orientado a la izquierda, en la representación de Fischer (véase el Cap. 5) y los D-aminoácidos son su imagen especular. El carácter L o D de los aminoácidos condiciona la estructura secundaria de las proteínas, por la orientación de la cadena lateral cuando se forma una cadena polipeptídica. En el caso de la *treonina* y la *isoleucina*, existe un segundo centro asimétrico sobre el C_β, que da lugar a la existencia de cuatro estereoisómeros distintos, dos de la serie L y otros dos de la serie D. El estereoisómero de la serie L que no forma parte de las proteínas se denomina *alo*. Por ejemplo, el nombre de los 4 posibles isómeros para treonina son L-, L-aló, D- y D-aló. Un buen ejercicio para el lector es escribir las estructuras de los 4.

7.2.4.2 Comportamiento anfótero

El carácter anfótero de los aminoácidos es esencial para entender su comportamiento ácido/base en disolución y los métodos cromatográficos que permiten su separación. Todos

los aminoácidos son electrolitos débiles, ya que los grupos α-amino y α-carboxilo son ionizables, según los siguientes equilibrios:



Los valores de pK correspondientes a estos equilibrios de disociación oscilan entre 2 y 3 para el grupo carboxilo (pK₁ o pK_{COOH}), y entre 9 y 10 para el grupo amino (pK₂ o pKNH₃⁺) (Tabla 7-1). De acuerdo con la *ecuación de Henderson-Hasselbalch*, los grupos de los aminoácidos se encuentran mayoritariamente protonados a pH inferior a su pK, y no protonados a pH superior. Por tanto, a pH próximo a la neutralidad (como el plasmático, pH = 7.4), tanto el grupo carboxilo como el amino están cargados (COO⁻ y NH₃⁺, respectivamente) y los aminoácidos se encuentran predominantemente, en forma de doble ion (*zwitterion*) con carga neutra por compensación interna. Esta misma estructura es la que presentan en estado sólido cristalino.

Los aminoácidos que poseen un grupo ionizable en su cadena lateral presentan una tercera constante de disociación llamada pK_R. A este grupo pertenecen los aminoácidos ácidos, los básicos y dos polares, C e Y. La Figura 7-3 muestra todas las especies iónicas que pueden existir en equilibrio, según que el aminoácido sea:

- Neutro, sin ningún grupo ionizable en su cadena lateral.
- Ácido, con un grupo en su cadena lateral que, al desprotonarse, pasa de especie neutra a aniónica.
- Básico, con un grupo en su cadena lateral que, al desprotonarse, pasa de especie catiónica a neutra.

Analizando primero el caso neutro, son posibles tres especies: la catiónica (⁺Aa), la de doble ion (⁺Aa⁻) y la aniónica

Tabla 7-1. Constantes de ionización, punto isoeléctrico y carga aproximada a pH plasmático de los aminoácidos proteicos

Tipo de aminoácido	pK ₁	pK ₂	pK _R	pI	Carga al pH plasmático
Neutro (menos C e Y)	2 a 3	9 a 10	—	≈ 6	δ (-)
C	1.7	10.8	8.3	5.0	δ (-)
Y	2.2	9.1	10.1	6.15	δ (-)
Ácido (D y E)	2 a 3	9 a 10	3 a 4	≈ 3	-1 Neta
Básico (K y R)	2 a 3	9	10.5-12.5	≈ 10.5	+1 Neta
H	1.8	9.2	6.0	7.6	Casi nula

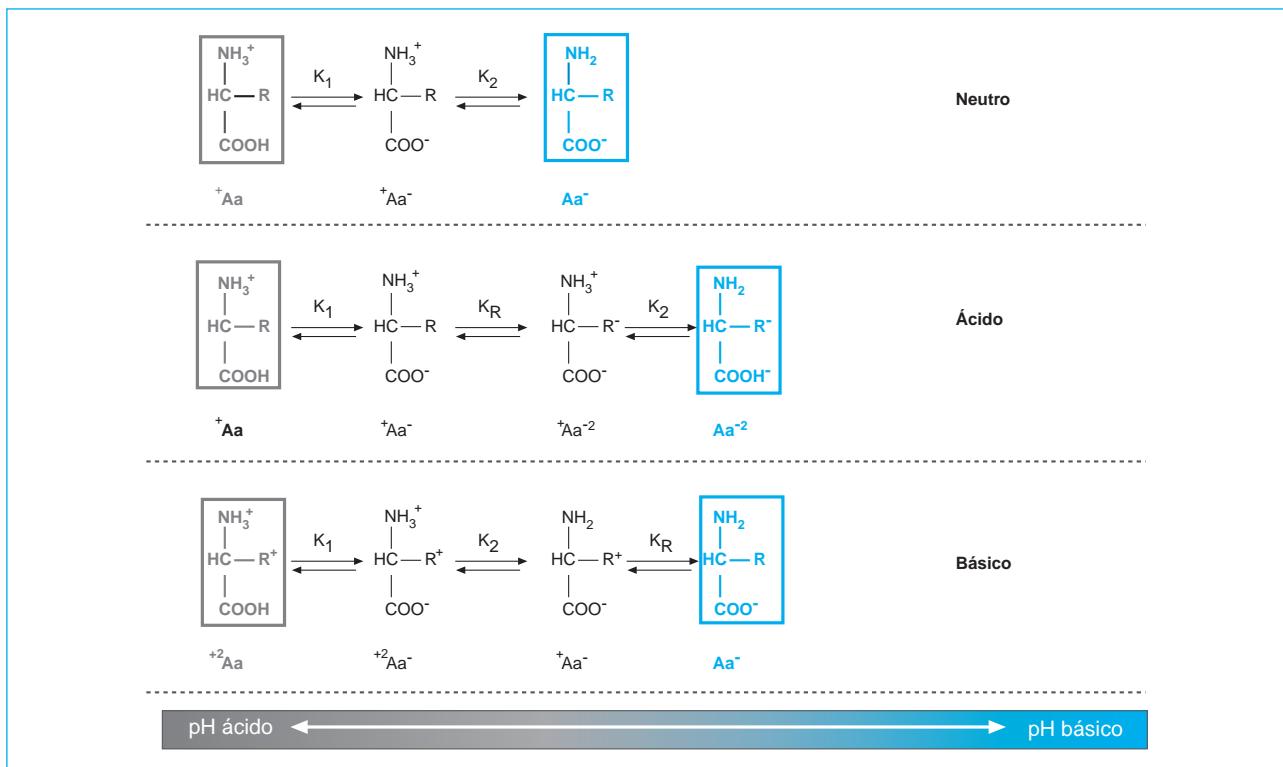


Figura 7-3. Equilibrios ácido/base y formas iónicas de los aminoácidos en disolución acuosa. Las especies catiónicas (en gris) predominan a pH ácido, mientras las aniónicas (en azul) predominan a pH básico.

(Aa^-). La Figura 7-3 expresa el orden de dissociación a pH crecientes, puesto que el grupo con menor valor de pK_a es el primero en liberar el protón, es decir, el más ácido. El porcentaje de moléculas que se encuentran en equilibrio en cada forma depende del pH de la disolución, según la ecuación de Henderson-Hasselbalch. El punto isoeléctrico (pI) se define como el pH al cual la carga neta total es nula. En ese punto se cumplen dos condiciones:

- La especie neutra es la predominante.
- Las concentraciones de las especies catiónica y aniónica en equilibrio están compensadas, es decir: $[{}^+Aa] = [Aa^-]$.

Si se expresan los valores de esas especies en función de las constantes de dissociación y se igualan las expresiones obtenidas, se deduce fácilmente que, $[H^+]^2 = K_1 K_2$ o, en forma logarítmica, $pI = (pK_1 + pK_2) / 2$.

En el caso de los *aminoácidos ácidos*, la Figura 7-3 muestra el orden de dissociación, teniendo en cuenta que el grupo más ácido es el α -carboxilo, seguido por el grupo de la cadena lateral y, finalmente, el grupo α -amino. En el caso de la *tirosina*, el grupo que se disocia en segundo lugar es el

α -amino, para finalizar con el fenólico de la cadena lateral (véanse valores de pK en la Tabla 7-1). Para estos aminoácidos, existen ahora cuatro especies iónicas y tres equilibrios de dissociación, que pasan desde la especie (${}^+Aa$) hasta la (Aa^{-2}). En el pI , la especie predominante es la neutra (${}^+Aa^-$) y las especies con carga neta se han de compensar, es decir, $[{}^+Aa] = [Aa^-] + 2[Aa^{-2}]$. A pH cercano al pI , la especie más negativa (Aa^{-2}) apenas existe, por lo que la ecuación anterior se puede simplificar, obteniéndose la expresión:

$$pI = (pK_1 + pK_R) / 2$$

En el caso de los aminoácidos básicos, de nuevo la Figura 7-3 muestra el orden de dissociación para la *lisina* y la *arginina*: primero, el grupo α -carboxilo; luego, el grupo α -amino y, finalmente, la cadena lateral. Para la *histidina*, se disocia antes el grupo *imidazol* que el α -amino (véase valores de pK en la Tabla 7-1). Al igual que en el caso de los aminoácidos ácidos, existen también cuatro especies iónicas y tres equilibrios de dissociación, que pasan de la especie (${}^{+2}Aa$) hasta la (Aa^-). En el pI , la especie neutra es predominante y la compensación de cargas debe cumplir que $[{}^+Aa] + 2[{}^{+2}Aa] = [Aa^-]$. La contribución de la especie (${}^{+2}Aa$) es ahora despreciable.

ciable a un pH cercano al pI, y se puede obtener la expresión para calcular el pI como:

$$\text{pI} = (\text{pK}_\text{R} + \text{pK}_\text{2}) / 2.$$

Obsérvese que con estas simplificaciones, el valor del pI es siempre igual a la semisuma de los pK correspondientes a los dos equilibrios que flanquean la especie neutra. Como la carga neta de un aminoácido será positiva a $\text{pH} < \text{pI}$, y negativa a $\text{pH} > \text{pI}$, la Tabla 7-1 muestra la carga aproximada de los aminoácidos en el plasma, a pH cercano a 7.4. Los *ácidos aspártico* y *glutámico*, que tienen los valores de pI más bajos, y muy alejados de ese valor de pH, tienen una carga neta de -1. Los aminoácidos neutros tienen una densidad de carga negativa, pero la diferencia entre el pI y 7.4 no es suficiente para que sea de una unidad neta. La *histidina* tiene una carga casi nula, pues su rango de pI es similar a 7.4. En ese rango de pH, es el aminoácido que muestra un mayor poder regulador y el utilizado con ese fin por proteínas tales como la hemoglobina. Finalmente, sólo la *lisina* y la *arginina* tienen carga positiva al pH plasmático.

7.2.4.3 Absorbancia ultravioleta (UV)

Los aminoácidos *fenilalanina*, *tirosina* y *triptófano* contienen en su cadena lateral un anillo aromático con dobles enlaces conjugados y, por tanto, absorben luz UV (entre 270 y 300 nm) en magnitud creciente, según el orden mencionado. La absorbancia a 280 nm suele utilizarse para detectar y cuantificar proteínas en disoluciones acuosas. El resto de los aminoácidos con cadenas laterales alifáticas absorbe en el espectro UV lejano, a longitudes de onda más bajas, pero esa absorción tiene menos aplicaciones prácticas. Cuando forman parte de las proteínas, se emplea la absorción en el UV lejano, 214 nm, para su seguimiento por la absorción que presenta el esqueleto peptídico en esa longitud de onda.

7.2.4.4 Reacciones de identificación

Aunque los aminoácidos no son moléculas coloreadas, sus grupos funcionales y las cadenas laterales pueden reaccionar con algunos reactivos químicos, dando productos coloreados que permiten identificarlos y cuantificarlos. Son mucho más empleados los reactivos que reaccionan con la parte común, los grupos amino y carboxilo, y permiten cuantificar todos los aminoácidos después de su separación cromatográfica. Entre estos reactivos, el más utilizado es la *ninhidrina* que, en caliente, da lugar a una coloración característica (*púrpura de Ruhemann*), excepto en el caso de la prolina y sus derivados, que da una coloración amarillo-ocre. No obstante, el color puede cambiar a rosa-rojizo en medios ácidos, pero es muy utilizado por su especificidad

para α -aminoácidos. Más recientemente, se han utilizado otros reactivos más sensibles, como los fluorocromos *o-fthal-dehído* y *fluorescamina*, que dan derivados fluorescentes empleados en la detección y cuantificación de los actuales analizadores de aminoácidos, por su mayor sensibilidad.

7.3 DERIVADOS DE AMINOÁCIDOS: AMINAS BIÓGENAS, POLIAMINAS Y CETOÁCIDOS

Los aminoácidos pueden sufrir modificaciones estructurales en sus grupos característicos o pérdida de alguno de éstos, para transformarse en compuestos que tienen importancia metabólica, como la *sarcosina* o la *creatina*. El número de modificaciones es bastante amplio y difícil de enumerar, pero básicamente podemos establecer dos principales, la pérdida del carboxilo los transforma en aminas y la del amino, en ácidos. La pérdida del grupo carboxilo hace que produzcan una clase de biomoléculas conocidas como *aminas biógenas*, de gran importancia como reguladores hormonales y neurotransmisores. Las *catecolaminas* e *indolaminas* son un ejemplo de este tipo de transformaciones (véase el Cap. 33). La descarboxilación de la histidina en *histamina* también tiene un gran interés por los efectos de esta amina. La descarboxilación de los aminoácidos *ornitina* y *lisina* da lugar a las diaminas *putrescina* y *cadaverina*, respectivamente. La putrescina es precursora de otros dos compuestos, *espermidina* y *espermina*, con tres y cuatro grupos amino, respectivamente, completando la familia de las *poliaminas*. Estos compuestos participan en procesos de crecimiento y proliferación celular, e interactúan con ácidos nucleicos, regulando los procesos de transcripción y traducción.

Cuando la pérdida es del grupo amino, los aminoácidos se transforman en *α -cetoácidos* que, generalmente, ya no son compuestos nitrogenados aunque intervienen en el metabolismo nitrogenado. Los más importantes son los ácidos *α -cetoglutárico*, *oxalacético* y *pirúvico*, derivados respectivamente de los ácidos glutámico, aspártico, y de la alanina, con el concurso de las enzimas *aminotransferasas* (véase el Cap. 16).

7.4 EL ENLACE PEPTÍDICO

El *enlace peptídico* posee una gran importancia biológica, quizás la máxima, igualada con el enlace fosfodiéster (véase el Cap. 8). Las proteínas son polímeros de aminoácidos unidos mediante este tipo de unión, que es un enlace amida entre el grupo α -carboxilo de un aminoácido y el grupo α -amino de otro, con liberación de una molécula de agua. En esta condensación se forma un péptido. La unión de dos aminoácidos

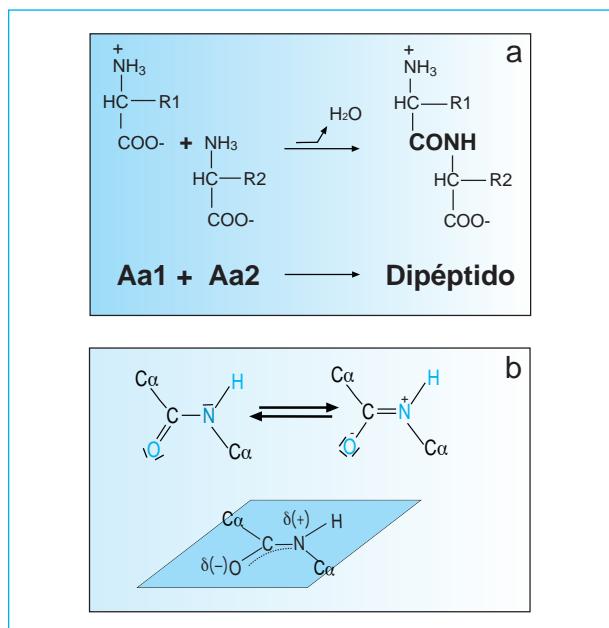


Figura 7-4. (a) Formación del enlace peptídico entre los grupos carboxilo y amino de 2 aminoácidos. (b) Formas resonantes que le dan carácter de doble enlace al C-N y, por tanto, planaridad a todos los átomos del enlace peptídico.

origina un *dipéptido* (Fig. 7-4a), pero, la formación de nuevos enlaces peptídicos con otros aminoácidos dado el carácter bifuncional de éstos, da lugar sucesivamente a *tripéptidos, oligopeptidos, polipeptidos y proteínas*.

Muchas de las características de los péptidos y las proteínas dependen de las características del enlace peptídico. En primer lugar, el enlace es muy resistente a la hidrólisis, lo

que hace que las cadenas polipeptídicas sean bastante estables. En segundo lugar, la estructura del enlace peptídico es plana: la pareja de electrones del nitrógeno está en resonancia con los electrones π del enlace carbono-oxígeno, confiriendo carácter de doble enlace a la unión carbono-nitrógeno (Fig. 7-4b). Ello impide la libre rotación sobre dicho enlace, lo que determina que los cuatro del grupo —CONH— y los dos C α adyacentes al enlace peptídico sean copланarios y, normalmente, adoptan la disposición *trans* respecto al enlace carbono-nitrógeno.

7.4.1 Péptidos de importancia biológica

Con sólo los 20 aminoácidos proteicos, es fácil deducir que el número de péptidos posibles es casi ilimitado. Por ejemplo, para una secuencia de sólo 10 aminoácidos pueden existir 20^{10} (> 10 billones) de decapéptidos distintos. El número aumenta exponencialmente si consideramos cadenas más largas. Aunque sólo una parte muy pequeña de los péptidos teóricamente posibles tienen existencia y efectos biológicos, la variedad encontrada en los seres vivos es relativamente amplia.

Para nombrarlos de forma sistemática, se numera como primer aminoácido el que tiene su grupo α -amino libre, el llamado *extremo amino terminal* (o *N-terminal*), y se continúa hasta el último aminoácido, el que tiene el grupo α -carboxilo libre, que constituye el *extremo carboxilo terminal* (*C-terminal*) de la cadena. La Figura 7-5 ilustra la configuración extendida de los 8 primeros aminoácidos de un péptido, seril-leucil-alanil-glicil-alanil-fenilalanil-glutamil-etcétera Al margen del nombre basado en su secuencia de aminoácidos, la mayoría de los péptidos fisiológicos descu-

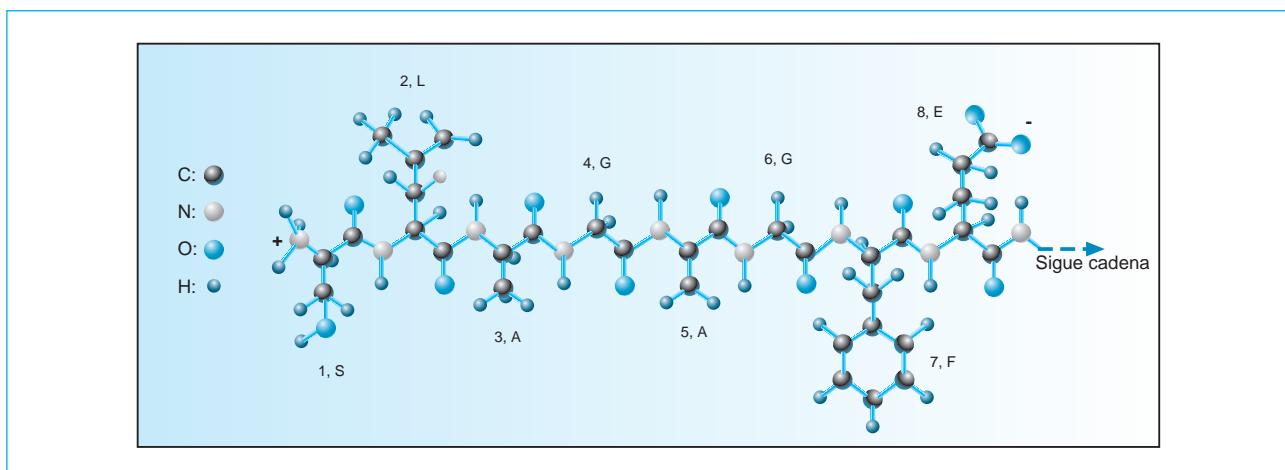


Figura 7-5. Estructura general del fragmento N-terminal de una cadena polipeptídica de secuencia, en versión abreviada, SLA-GAGFE-. Obsérvese en la cadena principal la alternancia de los grupos peptídicos y los carbonos α , de donde se ramifican las cadenas laterales de cada aminoácido.

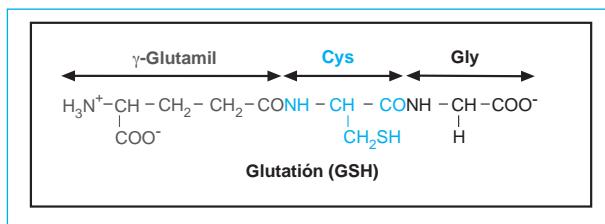


Figura 7-6. Estructura del glutatión reducido o γ -glutamil-cisteinil-glicina, uno de los tripéptidos más abundantes en las células. Obsérvese la anomalía del carboxilo que forma el primer enlace peptídico y el grupo tiol libre de la cadena lateral de Cys (en azul) por donde dimeriza a glutatión oxidado.

biertos tienen nombres comunes. Por mencionar sólo algunos ejemplos ilustrativos, destacamos en orden creciente de tamaño los siguientes:

- El *glutatión* (abreviado, *GSH*) es el tripéptido γ -glutamil-cisteinil-glicina (γ -ECG, Fig. 7-6). Es ubicuo y mantiene las condiciones reductoras en el citoplasma celular, por su capacidad de dimerización a la forma oxidada, mediante la formación de un *punte disulfuro* y una cistina entre las 2 cisteínas. Destaca también su primer enlace peptídico, que es anormal por la participación del grupo γ -carboxilo de la cadena lateral del glutámico, en lugar del grupo α -carboxilo (esto es rara vez encontrado en otros péptidos o proteínas).
- Las *encefalinas*, *Met-encefalina* y *Leu-encefalina* son dos pentapéptidos que difieren sólo en el aminoácido carboxilo terminal, según indica su nombre. Son neuropéptidos cerebrales y tienen propiedades analgésicas, por lo que forman parte de los péptidos opiáceos (véase el Cap. 33).
- La *vasopresina* y la *oxitocina* son dos nonapéptidos hormonales de estructuras muy semejantes, que se forman en la pituitaria o hipófisis posterior y regulan, respectivamente, la reabsorción renal de agua y la secreción de leche.
- Otros oligopéptidos mayores son la *α -MSH* (*hormona estimulante de melanocitos*: 14 aminoácidos) o la *ACTH* (*corticotropina*: 39 aminoácidos). Éstos y otros péptidos se forman por hidrólisis parcial de un precursor polipeptídico común, la *pro-opiomelanocortina* (*POMC*). Son factores de crecimiento o diferenciación celulares (véase el Cap. 27).

Son también oligopéptidos ciertos antibióticos ionóforos, como la gramicidina, que además, suelen contener aminoácidos modificados. Estos ionóforos suelen ser cílicos y se insertan en la membrana celular, creando poros por donde puede circular algún ion de forma más o menos específica, causando la muerte celular.

7.4.2 Péptidos y proteínas

La diferencia entre los términos proteínas y péptidos es, a veces, ambigua, pero por clarificar en lo posible podemos decir que se basa principalmente en dos criterios:

- La longitud. Aunque no existe un límite perfectamente definido, se consideran péptidos las cadenas de menos de 30-50 aminoácidos, mientras que las que contienen más, ya suelen denominarse proteínas. No obstante, el límite no es totalmente claro y depende de criterios particulares y, a menudo, históricos. Como ejemplo ilustrativo, no es extraño leer en textos de bioquímica que la insulina (51 aminoácidos) es una proteína, mientras que la parathormona (84 aminoácidos), en ocasiones, se considera un péptido.
- La existencia biológica. Este criterio es más claro, y cualquier cadena polipeptídica sintetizada químicamente en el laboratorio y sin existencia probada en algún organismo vivo, no puede ser llamada proteína, sino péptido o polipéptido, independientemente del número de aminoácidos que contenga la cadena y el orden. A menudo, estos péptidos tienen secuencias de aminoácidos al azar, bastante monótonas, o presentan modificaciones químicas en los aminoácidos diferentes de las que se encuentran en las cadenas polipeptídicas naturales.

7.5 CLASIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS

La clasificación de las proteínas es bastante diversa, dado el gran número de proteínas que existen y la diversidad de propiedades que presentan. Las formas de clasificación se basan en cuatro criterios, que son: composición, forma, solubilidad y función.

De acuerdo con su *composición*, pueden ser proteínas *simples* y proteínas *conjugadas*. Las primeras contienen sólo aminoácidos formando una o varias cadenas polipeptídicas, mientras que las segundas contienen, además de dichas cadenas, algún otro componente no aminoacídico de distinta naturaleza química. Dependiendo de dicha naturaleza, las conjugadas se pueden subclásificar en varios grupos: las *glicoproteínas*, *lipoproteínas* y *nucleoproteínas*, que tienen en su estructura una parte cuya naturaleza química responde a los otros grandes grupos de biomoléculas. Además, existen muchas proteínas conjugadas con algún otro grupo *prostético* de otra naturaleza (p. ej., *metaloproteínas*, *hemoproteínas*, *flavoproteínas*, entre otras). Este grupo es, por tanto, el más heterogéneo. La subclásificación de las proteínas conjugadas no es excluyente, por cuanto son frecuentes los casos de coexistencia de varios componentes distintos, por ejemplo, en las *metaloglicoproteínas*.

Atendiendo a su *forma*, puede hablarse de proteínas *globulares* y proteínas *fibrosas*. Las primeras, de forma esférica u ovoide, son generalmente solubles, mientras que las segundas tienen forma alargada, son insolubles y constituyen la base de los tejidos estructurales, por lo que también se conocen como *escleroproteínas*.

Muy relacionada con la anterior es la clasificación basada en la *solubilidad*, que puede considerarse como una subdivisión de las proteínas globulares:

- a) *Albúminas*. Proteínas de origen animal solubles en agua fría.
- b) *Globulinas*. También animales, muy poco solubles en agua fría, pero solubles en disoluciones salinas diluidas.
- c) *Glutelinas*. De origen vegetal, insolubles en agua y disoluciones salinas, pero solubles en ácidos y bases diluidos.
- d) *Prolaminas*. También de origen vegetal, son solubles en alcohol de bajo tamaño molecular.
- e) *Protaminas*. Proteínas básicas presentes en los líquidos seminales, solubles en agua y amoníaco diluido.
- f) *Histonas*. Proteínas también básicas, asociadas al ADN en el núcleo de todas las células eucariotas, pequeñas y solubles en agua y ácidos diluidos.
- g) *Escleroproteínas*. Insolubles en todos los medios antes mencionados; se solubilizan sólo por medios muy drásticos, como la degradación química con agentes hidrolíticos. Suelen coincidir con las proteínas fibrosas.

El último criterio de clasificación se basa en la *función biológica* que desempeñan, y es, quizás, el más informativo, pero también, el más heterogéneo por el gran número de funciones que las proteínas realizan en los organismos vivos. Los principales grupos son:

- a) *Enzimáticas*. Son uno de los grupos más numerosos, constituido por las proteínas catalizadoras de las reacciones metabólicas.
- b) *Transportadoras*. Son de dos grandes tipos. Las proteínas que transportan iones o metabolitos a través de las membranas celulares, o las que los transportan a distancias mayores a través de los líquidos biológicos.
- c) *De reserva*. Actúan como almacenes energéticos; por ejemplo, la *ovoalbúmina* y la *lactoalbúmina* del huevo y de la leche, respectivamente.
- d) *Contráctiles*. Como la *actina* y la *miosina* musculares, que pueden cambiar su longitud de forma reversible.

- e) *Estructurales*. Las más abundantes en cuanto a cantidad, como el *colágeno* o las *queratinas* del tejido conjuntivo, mantienen la morfología de los organismos superiores.
- f) *Cromosómicas*. Como las *histonas* y otras proteínas que interaccionan con el ADN en el núcleo celular, favoreciendo su empaquetamiento.
- g) *De defensa*. Como las *inmunoglobulinas* o las proteínas del *sistema complemento*, que defienden de las infecciones microbianas y moléculas patógenas.
- h) *Toxinas*. Más abundantes en los microorganismos, insectos o reptiles que en los mamíferos.
- i) *Hormonales*. Como la *insulina*, *glucagón*, etcétera, con funciones reguladoras del metabolismo.
- j) *Receptoras*. Proteínas a las que se unen específicamente las hormonas o los factores tróficos, para recibir y transducir las señales desde el exterior al interior celular.
- k) *Factores tróficos*. Son proteínas con función semejante a la del grupo anterior, pero más relacionadas con el desarrollo de los tejidos que con la regulación metabólica.
- l) *Factores de transcripción*. Es, quizás, el grupo de proteínas de mayor crecimiento en los últimos años; controlan la expresión específica de genes y su acción programada es responsable, tanto del desarrollo embrionario, como de la diferenciación de los diferentes tejidos.

7.6 ESTRUCTURA DE LAS PROTEÍNAS

Las proteínas son macromoléculas de estructura tridimensional, resultado de un gran número de interacciones entre todos sus grupos. Una proteína relativamente pequeña, formada por 500 aminoácidos, tiene unos 10 000 átomos y su masa molecular excede de los 50 kDa. A pesar de esa gran diversidad y riqueza estructural, cada proteína se pliega de una forma muy definida, dando lugar a una estructura tridimensional que, aunque tiene cierto grado de movimiento, es a la vez, bastante fija. Esta estructura se llama *estructura nativa*, y es totalmente necesaria para que la proteína lleve a cabo su función biológica.

La estructura de la proteína y la función que desempeña presentan una relación muy estrecha, de tal forma que los cambios en la estructura pueden determinar la disminución o pérdida de sus propiedades y función biológica. Determinar la estructura tridimensional de cada proteína, es decir, la ubicación espacial de cada átomo en la molécula, es una inmensa tarea que requiere un trabajo de purificación muy tedioso y técnicas diversas y muy sofisticadas, que culminan con la

cristalización de la proteína y el análisis por cristalografía de rayos X o resonancia magnética nuclear. Por ello, aún no se conoce la estructura de todas las proteínas, sobre todo si éstas presentan problemas para su cristalización, como es el caso de las proteínas de membrana o las glicoproteínas. Los datos conocidos están depositados en varias bases de datos, aunque la más completa es el PDB (banco de datos de proteínas, del inglés, *Protein Data Bank*), y los progresos de los últimos años son muy espectaculares, aunque una presentación del PDB en detalle excede los límites de este capítulo.

Para organizar el estudio estructural de las proteínas, sin una aspiración tan completa como el conocer totalmente las coordenadas y la capacidad de movimiento de todos los átomos, se establecen tradicionalmente cuatro niveles estructurales, en orden creciente de complejidad, que se llaman *estructuras primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria* de la proteína. Estos niveles están relacionados entre sí y son, en cierta forma, acumulativos en el sentido de que cada uno determina en gran medida a los siguientes.

La *estructura primaria* define el orden de los aminoácidos en las cadenas polipeptídicas que forman la proteína, por lo que coincide con la también llamada secuencia de aminoácidos de las cadenas leídas desde el extremo N- al C-terminal. En esta estructura radican las claves que determinan el

resto de las estructuras de orden superior, pero no de forma evidente y fácilmente predecible. En esta estructura, las proteínas quedan definidas como cadenas lineales formadas por alternancia de grupos peptídicos y $\text{C}\alpha$, que constituyen un esqueleto análogo para todas. Los grupos laterales de los aminoácidos, unidos a los $\text{C}\alpha$, se sitúan como ramificaciones de la cadena principal y se llaman también *residuos aminoácidos* o laterales.

La estructura primaria puede predecirse a partir de la secuencia del gen que codifica la proteína, siguiendo el código genético. De hecho, ésta es la forma más común por la cual se conoce la secuencia de todas las proteínas en las especies donde se ha secuenciado el genoma. Pero debe tenerse en cuenta que dicha secuencia es predicha por un método indirecto, y que la secuencia de cualquier proteína es confirmada totalmente si se realiza por un análisis directo.

Para ello, la técnica más utilizada en las últimas dos décadas ha sido la secuenciación de Edman, total o al menos de algún fragmento proteico, generalmente el N-terminal. El proceso se inicia con la separación de las cadenas polipeptídicas y el fraccionamiento específico de éstas en péptidos, de una longitud aproximada entre 20 y 50 aminoácidos, que se tratan con *fenilisotiocianato (FITC o PITC)* (Fig. 7-7). Este reactivo se une al extremo amino terminal del péptido a

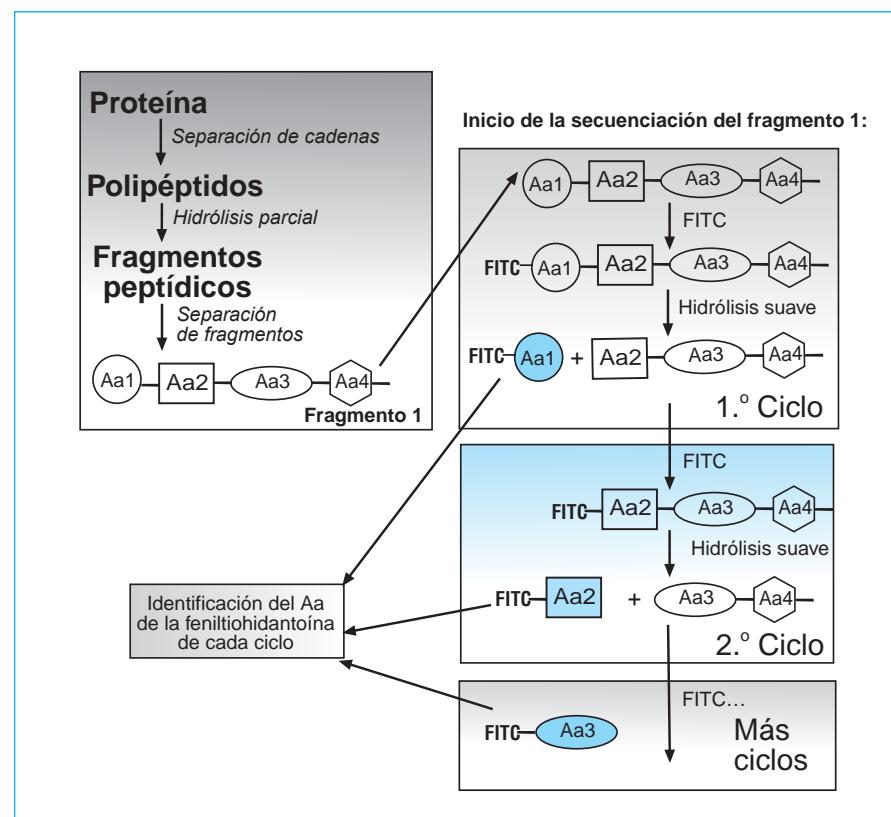


Figura 7-7. Esquema del procedimiento simplificado para secuenciar una proteína. A la izquierda, la obtención de los fragmentos peptídicos y, a la derecha, un esquema de los ciclos utilizados para determinar la estructura primaria de una proteína por el método de Edman o del isotiocianato, que se basan en la reacción con el reactivo, la hidrólisis del enlace peptídico y la separación de la feniltiohidantoína correspondiente.

secuenciar, marcando dicho extremo y sensibilizando el enlace peptídico más próximo, es decir el que une el aminoácido N-terminal con el situado en segunda posición. Este enlace se hidroliza fácilmente, liberando la *feniltiohidantoina* (*FTH* o *PTH*) correspondiente al aminoácido N-terminal, que se separa del resto de la cadena y se identifica. La cadena restante queda con un residuo menos, pero queda dispuesta para iniciar otro ciclo que identificará la FTH del segundo aminoácido, repitiéndose el proceso hasta secuenciar el péptido completo. Cuando se completa la secuenciación de los distintos fragmentos, se debe entonces dilucidar el orden en el que se encuentran en la cadena original, para lo que se acude a distintas estrategias, cuya exposición queda fuera de los límites del presente libro.

En los últimos años, la secuenciación de Edman ha dejado de ser el método más usual de secuenciar una proteína o algún fragmento de ella, y se utiliza más la técnica de la espectrometría de masas, que permite, si se utiliza de forma reiterativa (lo que se llama masas-masas), que se pueda ir escindiendo cada residuo del fragmento polipeptídico e identificarlo en función de su masa (a excepción de la leucina e isoleucina, indistinguibles por este método). Para profundizar en estos aspectos y en todos los relacionados con las estructuras proteicas de orden superior, debe acudirse a obras dedicadas a la estructura proteica.

La *estructura secundaria* define las disposiciones regulares y, por tanto, con ciertos elementos de simetría, que pueden encontrarse en toda o, al menos, en una parte de la proteína. Las restricciones debidas a la planaridad del enlace peptídico y a impedimentos estéricos para alojar las cadenas laterales de los aminoácidos, reducen mucho las posibilidades de plegamiento, haciendo que la cadena adopte normalmente una disposición zigzagueante (Fig. 7-8), donde los parámetros que cambian son los ángulos entre planos de enlaces peptídicos

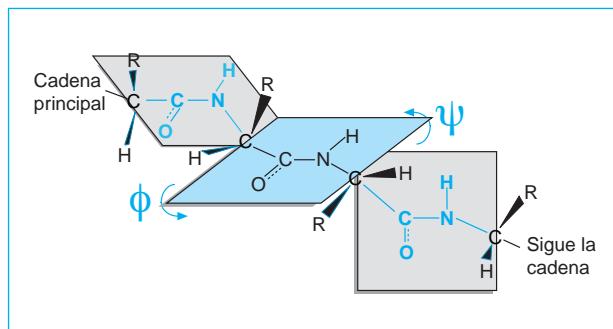


Figura 7-8. Estructura de un fragmento de cadena polipeptídica mostrando los ángulos de giro permitidos entre los planos de 3 enlaces peptídicos consecutivos. La ubicación espacial de las cadenas laterales, según su tamaño y características, es el principal factor que marca dichos ángulos.

consecutivos (llamados ángulos ψ y ϕ) para ubicar lo más establemente posible las cadenas laterales. Cuando el valor de esos ángulos se repite de forma constante en un fragmento de la estructura primaria, se obtiene una estructura espacial con cierta simetría, a la que llamamos estructura secundaria. Las más frecuentes son la hélice α y la hoja plegada (o lámina) β , cuyas características son:

Hélice α . En esta disposición, la cadena polipeptídica se pliega en forma helicoidal, como la rosca de un sacacorchos con rotación dextrógira. Las cadenas laterales de los L-aminoácidos se disponen hacia el exterior de la hélice, permitiendo su ubicación y disminuyendo los impedimentos estéricos que se derivarían de una disposición hacia el interior de la hélice, imposible para cadenas laterales voluminosas. En la α -hélice, cada aminoácido está girado 100° respecto al anterior, de manera que cada 3.6 residuos, se completa una vuelta y cada 4 aminoácidos, el enlace peptídico correspondiente se encuentra en la vuelta siguiente del paso de rosca, pero espacialmente cercano.

Como esos grupos peptídicos (—CONH—) tienen configuración *trans*, los átomos de O y de H se encuentran opuestos y pueden formar enlaces por puentes de hidrógeno (Fig. 7-9). Estos enlaces son la principal fuerza de estabilización de la estructura y determinan la amplitud vertical del paso de rosca (0.54 nm). Con mucha menos frecuencia, existen algunas variantes helicoidales con dimensiones diferentes, como las hélices π (4.4 residuos por vuelta) o la 3_{10} (3 residuos por vuelta). Incluso en algún caso excepcional se han encontrado proteínas que contienen fragmentos de hélice α levógira, formada por aminoácidos de la serie D.

Hoja plegada (*o lámina*) β . En esta estructura, las cadenas polipeptídicas en disposición zigzagueante se sitúan, bien en sentido paralelo, o bien, en antiparalelo (extremos amino y carboxilo contrapuestos, Fig. 7-10). La *disposición antiparalela* es un poco más compacta y frecuente que la paralela (0.65 frente a 0.7 nm por pareja de aminoácidos). En ambos casos, las cadenas pueden imaginarse siguiendo las aristas de una hoja de papel plegada varias veces a modo de acordeón. Los puentes de hidrógeno se producen entre enlaces peptídicos próximos de dos cadenas vecinas, de manera que son, en principio y en el caso de proteínas fibrosas, *intercatenarios*, a diferencia de la hélice α , donde son siempre *intracatenarios*. Cuando muchas cadenas con estructura de hoja plegada se empaquetan en distintas capas o láminas, los residuos laterales se sitúan alternativamente hacia arriba y abajo del plano medio donde se encuentran las cadenas polipeptídicas. Por ello, los aminoácidos con cadena lateral más pequeña, como G, A y S, favorecen la estabilidad de esta estructura al presentar menos impedimentos estéricos al empaquetamiento de las láminas.

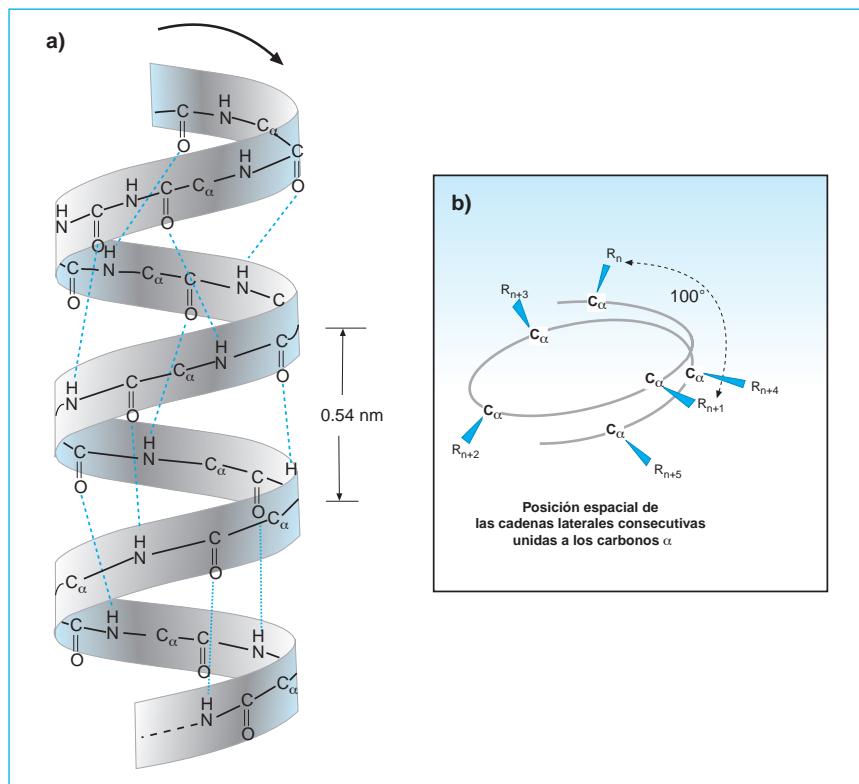


Figura 7-9. Modelo conceptual de estructura secundaria en α -hélice. (a) Los puentes de hidrógeno entre los enlaces peptídicos del residuo i y el $i+4$, situado en el siguiente paso de rosca, estabilizan la estructura. Obsérvese la posición hacia el exterior de las cadenas laterales. (b) Cada residuo está girado 100° respecto al anterior.

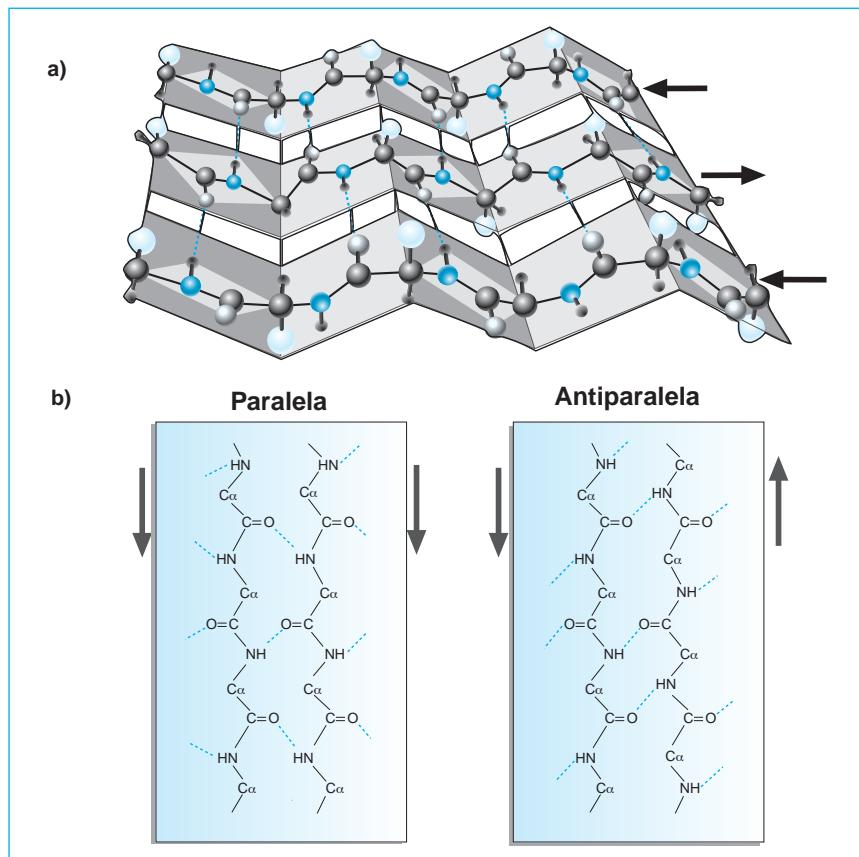


Figura 7-10. (a) Modelo conceptual de la estructura secundaria en hoja plegada β . Los puentes de hidrógeno entre los enlaces peptídicos de las cadenas (o fragmentos) estabilizan la estructura. Obsérvese la posición alternante y perpendicular a la lámina de las cadenas laterales. (b) La orientación de las cadenas puede ser paralela o antiparalela, según la posición de los extremos N- y C-terminales.

Las estructuras de hélice α y hoja plegada β se encuentran en proteínas fibrosas, como las α -queratinas y las β -queratinas, respectivamente, pero también en fragmentos de muchas proteínas globulares. En estas últimas, fragmentos lejanos en la estructura primaria de una misma cadena pueden situarse próximos en el espacio (véase la estructura terciaria) y formar puentes de hidrógeno intracatenarios, adoptando esos fragmentos una estructura en hoja plegada β dentro de la misma cadena. Esta disposición puede darse entre sólo dos fragmentos, pero también entre más, dando lugar a estructuras en haz o en barril, que trascienden al concepto de estructura secundaria y están más próximos a los denominados dominios proteicos (véase más adelante). En cualquier caso, debe tenerse en cuenta que la lámina β puede aparear mediante puentes de hidrógeno, tanto cadenas diferentes (puentes intercatenarios), como fragmentos de la misma cadena (puentes intracatenarios).

Como ya se indicó anteriormente, la estructura primaria condiciona la secundaria y posteriores, aunque la predicción suele ser muy compleja. Sin embargo, en algún caso, la predicción negativa parece sencilla, como sucede con la *prolina*, cuya cadena lateral es cíclica y, por tanto, con fuertes restricciones de rotación. Por otra parte, el enlace peptídico donde interviene el grupo imino de prolina en muchas ocasiones tiene configuración *cis* y no contiene hidrógeno, lo que impide la formación de puentes de hidrógeno. En conjunto, estas razones hacen a la prolina incompatible con las estructuras hélice α y lámina β .

De otra parte, es necesario destacar que, aunque de forma general la estructura primaria condiciona la secundaria y posteriores, no lo hace de forma total e inexorable. Recientemente se han encontrado fragmentos de secuencia de aminoácidos que pueden presentar en algunos casos (proteínas diferentes) o en algunas condiciones (para la misma proteína) la posibilidad de estructura hélice α o de lámina β . Esas secuencias se denominan *camaleónicas*, y los factores que determinan la adopción de una u otra forma de estructura secundaria están siendo estudiados con gran interés porque pueden tener fuertes implicaciones en su función y, por tanto, en la aparición de determinadas enfermedades (Recuadro 7-1, Fig. 7-11).

A nivel de la *estructura terciaria*, se define el plegamiento espacial completo de cada cadena, no sólo fragmentos, e incluye el conjunto de interacciones, covalentes o de otro tipo (puentes disulfuro, puentes de hidrógeno, hidrofóbicas, iónicas o electrostáticas, catión- π , fuerzas de van der Waals, etc.), que gobiernan dicho plegamiento. Estas interacciones se ilustran en la Figura 7-12, aunque es obvio que el número de combinaciones entre grupos y cadenas laterales de aminoácidos es casi infinito. Para mayor información sobre las de tipo catión- π , que han sido recientemente des-

critas en comparación con el resto de interacciones, véase el Recuadro 7-2.

La estructura terciaria engloba y describe tanto todos los fragmentos peptídicos, como también las interacciones con los posibles grupos prostéticos que puedan estar presentes en las proteínas conjugadas. Los fragmentos con estructuras secundarias variadas pueden combinarse con zonas sin estructura secundaria definida, llamadas *zonas de ovillo estadístico* o las de giro donde las cadenas se pliegan con un patrón determinado y cambian su orientación en muy pocos residuos. Así, los llamados giros β y γ , que permiten un cambio de dirección rápido con sólo 3 y 2 residuos respectivamente. Los primeros suelen contener glicina y los segundo, prolina, por razones estéricas.

En las proteínas fibrosas, las cadenas suelen tener la misma estructura secundaria en toda o casi toda su extensión, sin giros en la cadena ni dominios diferenciados, por lo que la estructura terciaria tiene prácticamente 100% con la misma estructura secundaria. Son ejemplos ilustrativos las α -queratinas (véase el Cap. 34) y β -queratinas, que han servido de modelo para determinar las dimensiones moleculares de la hélice α y la hoja plegada β , respectivamente.

En muchas proteínas, sobre todo las globulares, la estructura terciaria presenta zonas de plegamiento compacto con una entidad topológica propia, que pueden repetirse en varias proteínas de la misma familia, que se llaman *dominios*. Estos dominios corresponden a un nivel de organización intermedio entre la estructura secundaria y la terciaria, puesto que generalmente agrupan distintos fragmentos con estructura secundaria determinada, pero no definen la estructura de la cadena al completo. La estructura de las inmunoglobulinas es un ejemplo muy ilustrativo para este concepto (véase el Cap. 31). En sus cadenas existen unos dominios que se denominan constantes, que son comunes a todas, y otros variables, que son específicos de cada una y la base estructural de que reconozcan diferentes antígenos. Otro ejemplo de dominios propios de familias se puede encontrar en las zonas de unión de los factores de transcripción al ADN (véase el Cap. 20). Las zonas HLH (hélice-bucle-hélice), dedos de cinc o cremalleras de leucina son ejemplos de dominios que tienen las dimensiones apropiadas para encajar de distinta forma en la doble hélice del ADN.

De forma similar a los dominios, muchas proteínas contienen con frecuencia partes modulares con varios fragmentos de estructura secundaria determinada que no llegan a ser dominios, y que se suelen llamar estructuras *supersecundarias*. Estas estructuras adoptan esa forma modular por tener secuencias semejantes, que a nivel de estructura primaria se suelen denominar *motivos secuenciales*. Es decir, los motivos secuenciales comunes a varias proteínas inducen la adquisición de estructuras supersecundarias comunes. La

Recuadro 7-1.**ENFERMEDADES AMILOIDES. EL PRION**

El término amiloide fue acuñado por Virchow a mediados del siglo XIX para describir sustancias con aspecto semejante al almidón, que se observaban en ciertos tejidos patológicos por su doble refracción cuando se tiñen con rojo congo. Posteriormente se caracterizó su naturaleza proteica con estructura secundaria en lámina β .

Actualmente se han descrito más de 20 enfermedades que se caracterizan por la deposición de esta sustancia amiloide a partir de proteínas que cambian su conformación a lámina β y se tornan insolubles, bien íntegras o bien por fragmentos peptídicos escindidos de ellas. Muchas de ellas se producen en el sistema nervioso y causan degeneración neuronal. Entre ellas se encuentran las *encefalopatías espongiformes transmisibles* o enfermedades priónicas. En los seres humanos ocasiona una pérdida progresiva de la coordinación motora, demencia progresiva y, finalmente, la muerte. Fue primero descrita por los neurólogos Creutzfeld y Jacob y se presenta, tanto en forma hereditaria (muy poco frecuente, apenas 1:1 millón), como infecciosa. La posibilidad de infección interespecie es lo que le dio gran trascendencia a la enfermedad bovina, o enfermedad de las vacas locas, por el contagio por ingestión de carne bovina. Prion (*partícula proteica infecciosa*) fue un término acuñado por el investigador Prusiner para denominar el agente infeccioso de estas enfermedades, una vez que se demostró que

dicho agente no era ningún microorganismo ni virus, ni siquiera un ácido nucleico aislado.

El prion humano es una proteína expresada normalmente en el cerebro adulto (relativamente pequeña y con 5 repeticiones de un octapeptido rico en Gly en su región central), codificada por un gen del cromosoma 20 que contiene básicamente una estructura secundaria en α -hélice, pero que puede interconvertirse a otra estructura con una región de lámina β que le confiere resistencia a proteasas y una gran insolubilidad y tendencia a formar agregados proteicos que aíslan las neuronas y las destruyen, creando cavidades en el cerebro que dan el aspecto espongiforme. No se conoce la función

de la proteína normal, aunque parece ser neuroprotectora, unir Cu^{2+} y regular la actividad sináptica.

El prion normal (PrP^c) se transforma en prion patológico (PrP^{Sc}) por mutaciones puntuales (casos hereditarios, plenamente demostrados por dos mutaciones, M129V y E219K) o por contacto con algún ejemplar de la forma patológica (casos infecciosos) (Fig. 7-11). Por este último mecanismo, un sólo ejemplar de PrP^{Sc} puede transformar todas las moléculas normales PrP^c en patológicas, aunque el mecanismo de esa transformación conformacional no se conoce, ni la forma por la cual se produce la infección interespecie y la llegada al sistema nervioso tras la ingestión.

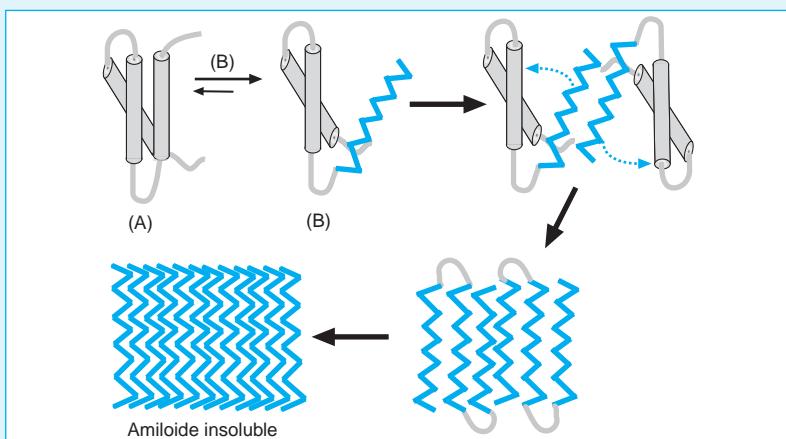


Figura 7-11. Modelo de formación de polímeros amiloideos insolubles a partir de proteínas como el prion. La proteína nativa normal (A) tiene una estructura con mayoría de α -hélice, pero puede isomerizarse muy lentamente a una forma patológica (B), con mayor contenido en lámina β . Determinadas mutaciones o la presencia de la forma (B) aceleran el paso de forma (A) a (B). Esta forma dimeriza por interacciones intercatenarias que favorecen que casi toda la cadena adopte la disposición de lámina β , hasta formar agregados amiloideos insolubles que en el sistema nervioso causan enfermedades neurodegenerativas (véase el Cap. 33).

relación entre ambos conceptos hace que, a veces, el término se use a ambos niveles estructurales y se emplee el término *motivos estructurales*, que integra los conceptos de estructura primaria y secundaria en el mismo término. Un par de ejemplos de estos motivos se ilustran en la Figura 7-13, el formado por 2 fragmentos de hélice α unidos por un bucle (motivo HLH) y otro motivo, formado por 6 fragmentos de lámina β , encontrado en los brazos Fab de los anticuerpos

(véase el Cap. 31), lógicamente con una disposición tridimensional en lugar de la planar representada en la figura por simplicidad.

Por último, la *estructura cuaternaria* define el número de cadenas polipeptídicas que contiene una proteína, su disposición espacial y las interacciones que pueden existir entre ellas y que dirigen esa disposición. Según esto, las proteínas que tienen sólo una cadena polipeptídica (llamadas monó-

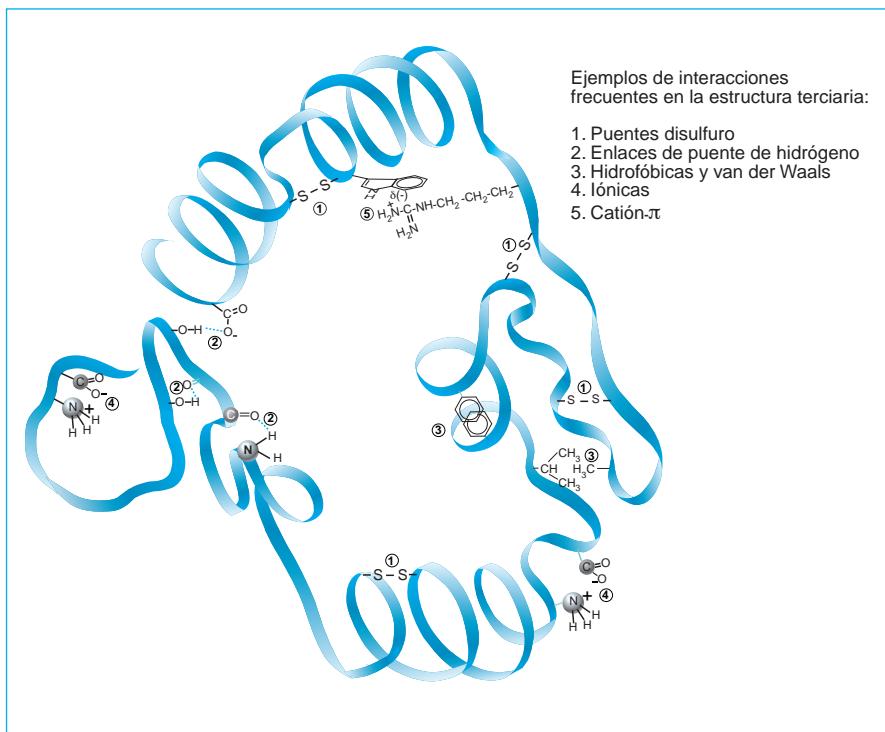


Figura 7-12. Esquema ilustrativo de las fuerzas más frecuentes que intervienen en el mantenimiento de la estructura terciaria de una proteína.

meros) no poseen estructura cuaternaria. Las proteínas con más de una cadena o subunidad se llaman *dímeros*, *trímeros*, *tetrámeros*, *oligómeros* y *multímeros*, según el número que contengan. Además, las subunidades pueden ser iguales o

distintas, empleándose para definir esto los prefijos *homo* y *hetero*, respectivamente. Por ejemplo, la Figura 7-14 muestra un ejemplo de homodímero de una proteína enzimática. Se observa la simetría y varios detalles de la estructura secundaria y terciaria.

Recuadro 7-2. LAS INTERACCIONES CATIÓN- π

Las interacciones *cation-π* constituyen el último tipo de fuerza no covalente descrito en el mantenimiento de la estructura espacial de las proteínas, principalmente para la estructura secundaria y terciaria. Su descripción data de 1996 por Dougherty, aunque antes otros autores la denominaron interacción amino-aromática.

Básicamente, esta interacción ocurre entre la nube electrónica de una cadena lateral aromática y la carga positiva de un aminoácido catiónico, y en la mayoría de los casos es atractiva, aunque, a ciertas distancias muy cortas, puede convertirse en repulsiva. Tiene características de atracción electrostática y de interacción de van der Waals, aun-

que la contribución de este último tipo de fuerza es más importante. Los aminoácidos que la forman son, por tanto, los aromáticos F, Y y W con los básicos K y R, aunque las más comunes y fuertes son las que forman el W con la R. Un 25% de los W totales de las proteínas depositadas en la PDB (*Protein Data Base*) están formando interacciones cation- π . Por término medio se encuentra una de estas interacciones cada 77 residuos, aunque hay casos como el hFGF (factor de crecimiento de fibroblastos humano) con sólo 126 aminoácidos y 5 interacciones cation- π esenciales para mantener su plegamiento.

El aminoácido R tiene una cadena lateral más grande y menos solvatada que la K, lo que favorece la interacción con W. Además, la R puede simultáneamente interaccionar con un residuo aro-

mático por cation- π y con otro residuo por puente de hidrógeno a través del otro grupo nitrogenado del grupo guanidino, mientras que la K no puede realizar ambas interacciones simultáneamente. La H tiene, a la vez, propiedades aromáticas y catiónicas, lo que complica la interacción con otro residuo. Por otra parte, las interacciones, a veces, no ocurren entre dos residuos, sino que pueden intervenir más, como un residuo rodeado de hasta 4 anillos aromáticos (en la *glicoamilasa*, una K interacciona con dos W y dos Y produciendo un núcleo con una estructura muy estable y difícil de romper). En muchos casos, la interacción se produce entre residuos consecutivos en la estructura primaria o cercanos en la secundaria, como por ejemplo el residuo *i* con el *i+4* en una α -hélice.

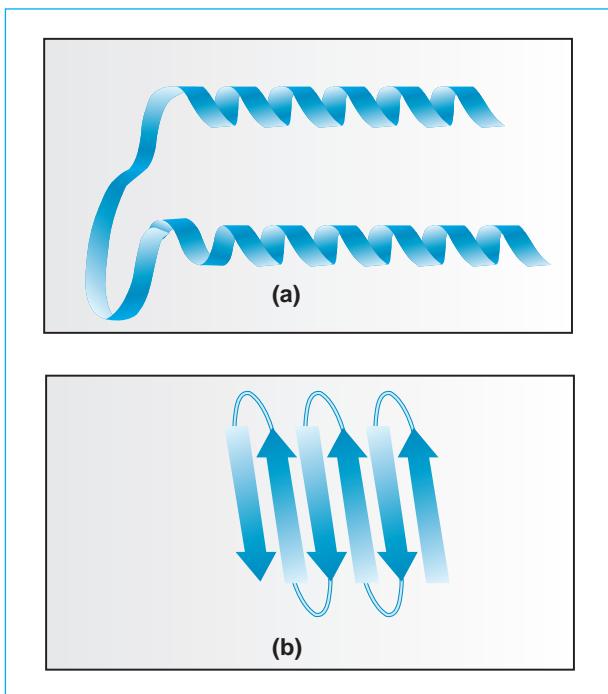


Figura 7-13. Dos ejemplos de estructuras supersecundarias. (a) Asociación de dos α -hélices unidas por un fragmento en bucle o lazo, semejante a los dominios HLH de algunos factores de transcripción; (b) seis fragmentos peptídicos con estructura en lámina β antiparalela.

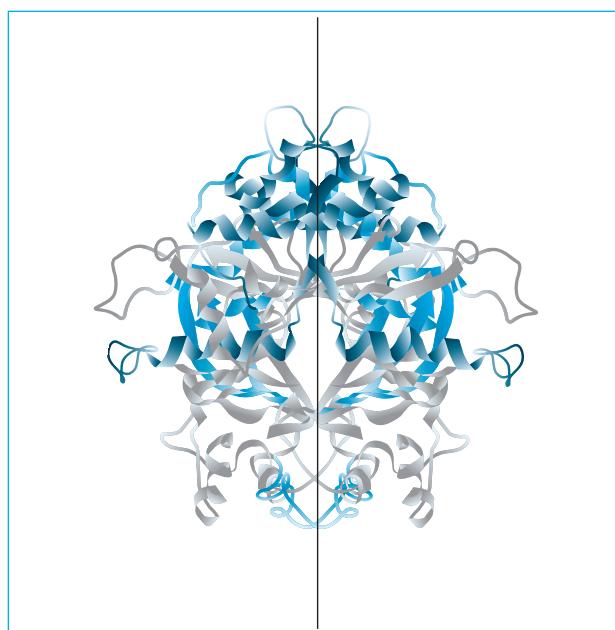


Figura 7-14. Estructura cuaternaria de la piruvato quinasa. Éste es un ejemplo de homodímero. Se observa la simetría respecto a un eje perpendicular y varios detalles de la estructura secundaria y terciaria de cada subunidad (fragmentos de α -hélice y de lámina β).

daria y terciaria de cada una de las dos subunidades que forman la proteína. Otras veces, la representación de la estructura cuaternaria se simplifica eliminando detalles paraclarificar la entidad de cada subunidad (p. ej., véase la correspondiente a la hemoglobina, Fig. 30-3). La estructura cuaternaria define, tanto el número, como la disposición espacial relativa de cada una las subunidades respecto a las otras, describiendo las fuerzas que permiten su asociación y en último extremo incluso posibles pequeños movimientos relativos entre las subunidades.

Las fuerzas que mantienen la estructura cuaternaria son diversas, y de la misma naturaleza que las que intervienen en la estructura terciaria ya descritas en la Figura 7-12, puesto que para formar un enlace iónico o un puente de hidrógeno no es importante que los grupos participantes estén en la misma o en distinta cadena, sino que lo esencial es su proximidad espacial. De nuevo la localización e importancia relativa del conjunto de estas interacciones es específica para cada proteína, y poco se puede generalizar acerca de estos conceptos.

Es frecuente que las proteínas enzimáticas o transportadoras con estructura cuaternaria tengan dos o más estados distintos que afectan a su actividad biológica. Las enzimas alostéricas, la hemoglobina o muchos receptores de membrana o canales iónicos proporcionan ejemplos de este fenómeno y algunos de esos casos concretos se estudian con mayor profundidad en otros Capítulos. Es de gran interés que el lector relacione en esos momentos los cambios alostéricos de la hemoglobina con o sin oxígeno, o los cambios estructurales en un canal iónico, según estén libres o tengan unido el ligando, con los cambios en su estructura cuaternaria, de gran repercusión en su función. En las proteínas estructurales, la estructura cuaternaria forma multímeros en forma de fibras o poliedros, como las proteínas virales que forman las cápsidas del virus.

7.7 PROTEÍNAS FIBROSAS. ESTRUCTURA DEL COLÁGENO

Aunque el número de proteínas globulares es muy grande, en los organismos superiores también abundan las proteínas fibrosas, generalmente insolubles y con papel estructural. Están formadas por cadenas polipeptídicas con una estructura secundaria monótona que casi coincide con la terciaria, y la cuaternaria es generalmente una red tridimensional formada por muchas cadenas en una disposición a menudo regular y ordenada con pautas de dimensiones constantes. Ejemplos ya mencionados son las α -queratinas (véase el Cap. 34, componentes del cabello, la piel, los epitelios, las uñas, la lana y los cuernos de los mamíferos), con estructura

de hélice α , y las β -queratinas (presentes en la fibroína de la seda, las escamas, las garras y los picos de reptiles y aves), con estructura de lámina β .

Pero la proteína fibrosa más abundante del cuerpo humano es el *colágeno*. Esta proteína es la base del tejido conjuntivo, y el constituyente orgánico principal de la matriz de los tejidos calcificados (véase el Cap. 34). Su estructura primaria es muy singular y tiene una relación muy evidente con la estructura secundaria que determina, mucho más de lo que es normal en otras proteínas. En la mayor parte de su secuencia, la glicina se repite cada tres residuos, de manera que este aminoácido representa prácticamente el 33% de su composición. Son también muy abundantes la prolina, como tal o hidroxilada, cuya suma normalmente excede el 30%, aunque varía según el tejido y la especie de procedencia del colágeno. Por tanto, la secuencia Gly-X-Pro, donde X puede ser cualquier aminoácido (muchas veces, la propia hidroxiprolina), se encuentra muy repetida. La hidroxiprolina (hidroxilada en

posición 3 ó 4) es muy característica del colágeno y de la *elastina*, otra proteína fibrosa de tendones y cartílagos, que contiene aminoácidos hidroxilados, aunque en menor cantidad y preferencialmente, la 5-hidroxilisina.

Las cadenas se asocian en trímeros formando unidades de *tropocolágeno*, que constituyen la base estructural de la fibrilla de colágeno. Cada uno de estos trímeros tiene aproximadamente una masa de 300 kDa, una longitud de 300 nm y un diámetro de 1.5 nm. Cada cadena tiene una estructura helicoidal levógira más extendida que la hélice α , pero las tres forman una *hélice tritrenzada* en sentido contrario, es decir, a la derecha, al contrario del giro de cada cadena individual (Fig. 7-15). El hecho más característico de esta estructura radica en que cada tres residuos los residuos laterales coincidentes de cada cadena polipeptídica del trímero se orientan hacia el interior de la trenza. Sólo la *glicina*, con su pequeña cadena lateral (sólo un hidrógeno), es estéricamente compatible con esta disposición, es decir, tiene espacio

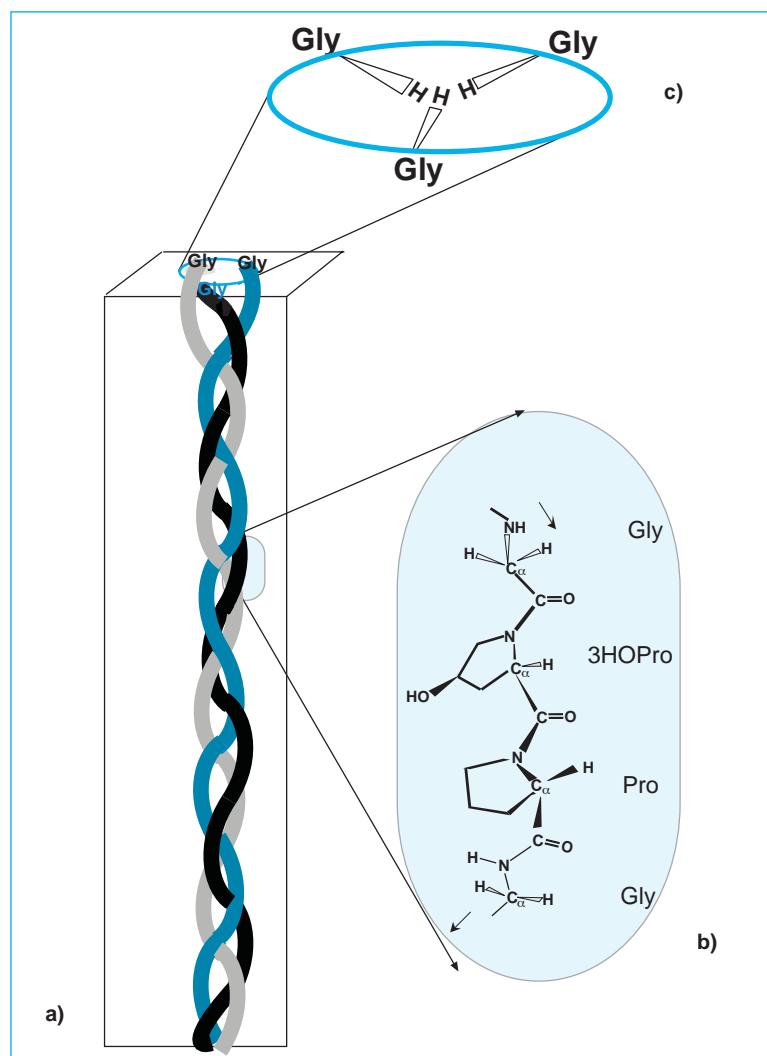


Figura 7-15. Estructura del colágeno: (a) Triple hélice del tropocolágeno. (b) Detalle de un fragmento de una de las cadenas mostrando una secuencia típica -Gly-Pro-OHPro-. Los anillos pirrólicos de la prolina determinan la geometría del la hélice. (c) Sección transversal de la triple hélice que muestra la disposición hacia el interior de las 3 cadenas laterales (H) de Gly que se repite cada 3 residuos. Sólo la Gly es compatible con tal disposición.

suficiente para acoplarse en ese espacio tan limitado. La *prolina* e *hidroxiprolina* también cooperan al mantenimiento de la estructura, porque los anillos pirrólicos rígidos de estas unidades y la ausencia de hidrógenos sobre el nitrógeno peptídico disminuyen el número de puentes de hidrógeno entre enlaces peptídicos y favorece la formación de una hélice de mayor longitud de paso de rosca que la hélice α . Los hidroxilos de la hidroxiprolina forman puentes de hidrógeno con otra disposición, lo que contribuye a mantener la triple hélice de la poliprolina, característica del tropocolágeno.

Existen dos cadenas principales de colágeno, llamadas α_1 y α_2 , con pequeñas diferencias en su composición de aminoácidos. Cada clase tiene varios tipos, que se diferencian en el grado de glicosilación (véase el Cap. 34) y el número de hidroxilaciones en los residuos de P y K. Además, el colágeno forma enlaces entrecruzados tanto entre cadenas de la misma unidad de tropocolágeno, como entre distintas unidades, lo que aumenta la dureza de la fibra de colágeno y la resistencia a la tracción. Estos enlaces aumentan por envejecimiento del colágeno.

7.8 PROPIEDADES DE LAS PROTEÍNAS EN DISOLUCIÓN

Aparte de algunas decenas de proteínas fibrosas, una gran parte de las proteínas de cualquier organismo son globulares, y se encuentran disueltas en el citoplasma celular, el líquido extracelular o en el resto de los líquidos biológicos, es decir, en soluciones acuosas salinas, donde llevan a cabo su función. Por ello, es importante analizar el comportamiento de estas proteínas en estas condiciones, lo que viene determinado por dos características esenciales, que son, su naturaleza poliónica y *macromolecular*.

La gran mayoría de los grupos α -amino y α -carboxilo de los aminoácidos está formando parte de los enlaces peptídicos, pero los dos extremos de cada cadena y los residuos laterales de los aminoácidos ácidos y básicos contribuyen a que cualquier proteína tenga numerosas cargas, tanto positivas como negativas, y se comporte como un ion polivalente que necesita contraiones para equilibrar su carga. Estos contraiones son los iones pequeños, a menudo monovalentes, procedentes de las sales inorgánicas existentes en el medio acuoso, como el sodio, potasio o cloruro.

En principio, las constantes de disociación de los grupos ionizables de una proteína son semejantes a las correspondientes a las cadenas laterales de los aminoácidos libres (Tabla 7-1). Sin embargo, la influencia de los grupos cercanos de la cadena polipeptídica puede, a veces, producir variaciones considerables respecto al valor del grupo ionizable de la cadena lateral del aminoácido libre. Como regla general, el

margen de variación puede acotarse al intervalo $pK_{Aa} \pm 1$, siendo el valor de pK_{Aa} el correspondiente al aminoácido libre. En cualquier caso, los péptidos y las proteínas presentan, al igual que los aminoácidos, un *punto isoeléctrico (pI)* que se define como el pH al cual su carga neta es nula, por compensación interna de las cargas. Es fácil deducir que a $pH < pI$, las proteínas tienen carga positiva neta, tanto mayor cuanto más se alejen ambos valores; mientras que a $pH > pI$, las proteínas poseen carga negativa neta, con igual tendencia respecto al valor absoluto de la carga.

El pI de cada proteína depende de su composición de aminoácidos. Las proteínas con un contenido similar de aminoácidos ácidos y básicos tienen un pI entre 6 y 8. Las proteínas con una gran abundancia de aminoácidos ácidos, D y E, presentan un valor de pI bajo; tal es el caso de la *pepsina*, cuyo pI está próximo a 1.5. Por el contrario, las proteínas ricas en los aminoácidos básicos K y R presentan valores de pI altos, como sucede con las histonas. El pI de cada proteína suele ser adecuado con el medio fisiológico donde suele encontrarse, para que así pueda cumplir mejor su función biológica. La *pepsina* actúa en el jugo gástrico, donde el pH es muy ácido, mientras que las histonas se asocian con el ADN en la cromatina nuclear y, por tanto, necesitan cargas positivas para interaccionar con el ADN (véase el Cap. 18).

El carácter poliónico de las proteínas hace que su solubilidad dependa de factores como el pH o el contenido salino del medio. Sin entrar en estudios fisicoquímicos que necesitan de más rigurosidad que una presentación meramente cualitativa, como la que sigue a continuación, se puede decir por regla general que las proteínas son más solubles cuando se reducen las posibles interacciones entre sus moléculas, puesto que la disolución es una forma de dispersar las diferentes moléculas individuales en el medio acuoso. La reducción de interacciones puede producirse, bien por repulsión electrostática o por *apantallamiento* con los contraiones o con las propias moléculas de agua que producen una o varias capas de solvatación debidas a su polaridad. Por ello, muchas proteínas presentan una solubilidad mínima a un $pH = pI$, ya que como la carga neta es nula, existe una menor repulsión entre sus moléculas, que tienen más tendencia a agregarse y formar asociaciones de muchas moléculas que ya no son solubles y tienden a precipitar o a coagular.

Respecto al contenido salino, o fuerza iónica, el efecto es bifásico y complejo. Si de nuevo simplificamos este punto, puede decirse que concentraciones bajas o moderadas de sales aumentan la solubilidad de las proteínas, porque los iones salinos apantallan las moléculas proteicas (fenómeno que se conoce como *solvabilización por salado* o *efecto salting-in*). Por el contrario, una gran concentración salina disminuye la solubilidad proteica, porque tanto los iones como las proteínas compiten por las moléculas de agua disolvente

y cuando existe una gran cantidad de iones pueden disminuir sus efectos solubilizadores por no existir suficiente agua para todas las solvataciones posibles, tanto de los iones como de las proteínas (fenómeno llamado *insolubilización por salado o efecto salting-out*).

Por su naturaleza macromolecular, las proteínas forman disoluciones coloidales. Ello condiciona el comportamiento proteico ante membranas semipermeables, que no permiten el paso de macromoléculas, lo que tiene una gran importancia, tanto en los laboratorios de bioquímica experimental, en procesos de concentración y purificación de proteínas mediante *diálisis*, como también en procesos fisiológicos, como, por ejemplo, la ultrafiltración del plasma sanguíneo en la lámina basal de los glomérulos renales. En estos fenómenos, la carga de la proteína ocasiona retenciones de iones pequeños y asimétricas en la distribución iónica a ambos lados de las membranas semipermeables, cuya magnitud puede ser cuantificada, en función de las concentraciones y la carga de la proteína y las sales presentes en la disolución (efecto Donnan, véase el Cap. 3).

7.9 PROTEÍNAS DE MEMBRANA

Además de las proteínas fibrosas y las proteínas solubles, para finalizar un panorama general se deben considerar, al menos someramente, las proteínas de membrana. A diferencia de las anteriores, estas proteínas son globulares, pero su estructura nativa presenta abundantes residuos aminoacídicos hidrofóbicos en su periferia. Esa propiedad les permite interaccionar con otros componentes de la membrana, como los fosfolípidos, aunque la interacción es distinta en las proteínas integrales respecto a las periféricas (véase el Cap. 10).

Las periféricas se pueden disociar de la membrana sin la destrucción total de ésta, por tratamiento con soluciones de alta concentración salina o con pH básicos, mientras que las integrales de membrana contienen varios fragmentos atravesando la membrana, destacando las de 7 y 12 fragmentos, que cumplen funciones de receptores o de transportadores. Su alto grado de inserción entre los fosfolípidos hace que se solubilicen sólo con detergentes, mediante disgregación de la membrana para formar micelas. Éstas son asociaciones, generalmente esféricas mixtas, que contienen moléculas de detergente, fosfolípidos y proteínas en proporción diferente, dependiendo de la cantidad de detergente utilizada. Estas micelas se comportan como glóbulos esféricos, manifestando propiedades de macromoléculas de forma incluso más acusada que las proteínas globulares, puesto que su tamaño es mayor que el de la mayoría de las proteínas aisladas. Su carga depende principalmente del detergente utilizado. Cuando se utiliza dodecil sulfato sódico (SDS), el detergente iónico más común, las micelas tienen carga negativa.

7.10 DESNATURALIZACIÓN DE LAS PROTEÍNAS

Se denomina *desnaturalización* a la pérdida de la estructura tridimensional nativa de la proteína. Como la función de las proteínas está estrechamente unida a la estructura tridimensional nativa que presentan las moléculas, la desnaturalización normalmente va apareada con la pérdida de su actividad biológica (Fig. 7-16). Este proceso se produce por diferentes tipos de factores, tanto físicos como químicos, entre los que se encuentran el calor, los pH extremos, los agentes caotrópicos, como la urea y los detergentes iónicos, los disolventes orgánicos, los agentes reductores de enlaces disulfuro o la

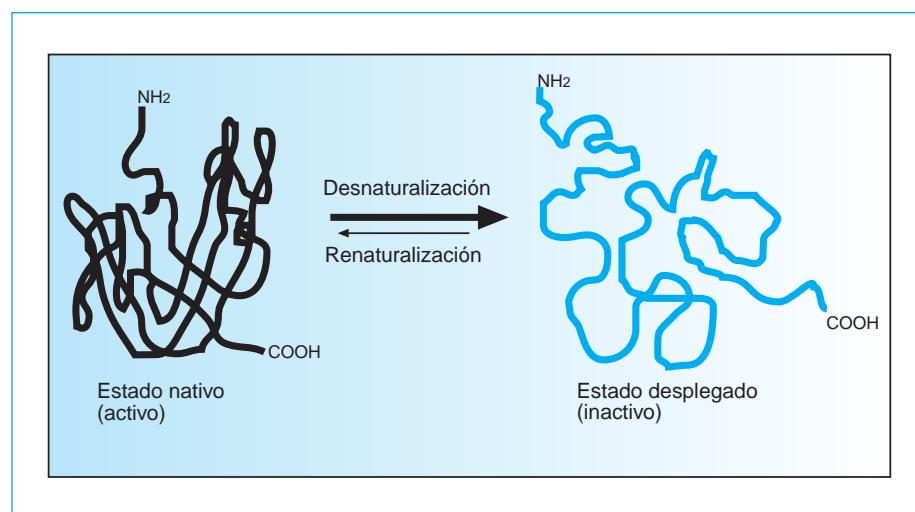


Figura 7-16. Esquema del proceso de desnaturalización/renaturalización proteico, desde el estado nativo, plegado y con actividad biológica, a un estado desplegado y sin actividad. La desnaturalización es fácil de conseguir por calor y otros agentes, pero la renaturalización sólo ocurre en unos pocos casos de proteínas pequeñas, cuya estructura terciaria está determinada por pocos enlaces con altas posibilidades de reformarse de forma espontánea.

alteración mecánica. Todos estos agentes rompen o debilitan en mayor o menor medida los distintos tipos de interacciones químicas que mantienen la estructura nativa. Los niveles estructurales que se pierden más fácilmente son la estructura terciaria, con despliegamiento más o menos drástico de las cadenas, y la cuaternaria. Este despliegamiento hace aflorar al contacto del disolvente los residuos más hidrofóbicos, lo que explica la pérdida de solubilidad de las proteínas globulares desnaturalizadas. Si el agente produce pérdida indiscriminada de enlaces por puente de hidrógeno, como la urea, se produce también la pérdida de las estructuras secundarias que puedan existir en fragmentos de la cadena, pero nunca la pérdida de la estructura primaria, por lo que la cadena polipeptídica queda íntegra, pero desplegada. Para romper la cadena, se necesitan condiciones químicas muy drásticas por la estabilidad del enlace peptídico o la acción de proteasas, en un proceso distinto de la desnaturalización que se denomina *degradación* o *digestión* parcial o total, según los productos sean fragmentos peptídicos o aminoácidos libres.

Debido a ese mantenimiento de la integridad de la estructura primaria, en teoría, la desnaturalización podría ser un proceso reversible, y el proceso contrario se llama *renaturalización* (Fig. 7-16). Pero la desnaturalización es un proceso irreversible en la gran mayoría de los casos. Hervir un huevo o cocinar un filete son ejemplos de desnaturalizaciones térmicas de utilidad culinaria, e ilustran tanto la irreversibilidad práctica del proceso como el cambio visible que sufren las

propiedades físicas de las proteínas cuando éstas se desnaturalizan. Sin embargo, algunas proteínas excepcionales y generalmente pequeñas, como la *ribonucleasa*, sí muestran un proceso de desnaturalización reversible. Ello significa que si se eliminan las condiciones desnaturalizantes y se reconstituyen condiciones compatibles con la estructura nativa, la proteína se renaturaliza.

7.11 EL PLEGAMIENTO DE LAS CADENAS

Los mecanismos que dirigen a una cadena polipeptídica a adoptar su conformación nativa es un proceso multifásico y bastante complejo, sobre todo en el caso de las proteínas globulares. En principio, este proceso se rige por principios fisicoquímicos, como son la tendencia de la cadena a alcanzar estados de mínima energía. Uno de los factores más importantes es la naturaleza hidrofóbica/hidrofílica de las cadenas laterales de los aminoácidos, que hace que las regiones ricas en aminoácidos polares o hidrofílicos tiendan a quedar en contacto con el medio acuoso, mientras que los no polares o hidrofóbicos tiendan a protegerse del agua, buscando su oclusión en el interior del glóbulo proteico y su interacción mutua. En la cadena existen *posiciones críticas*, que actúan de *centros de nucleación* y guían el plegamiento de la cadena, alternando fragmentos con estructura secundaria definida con otros que actúan de giros o centros de tor-

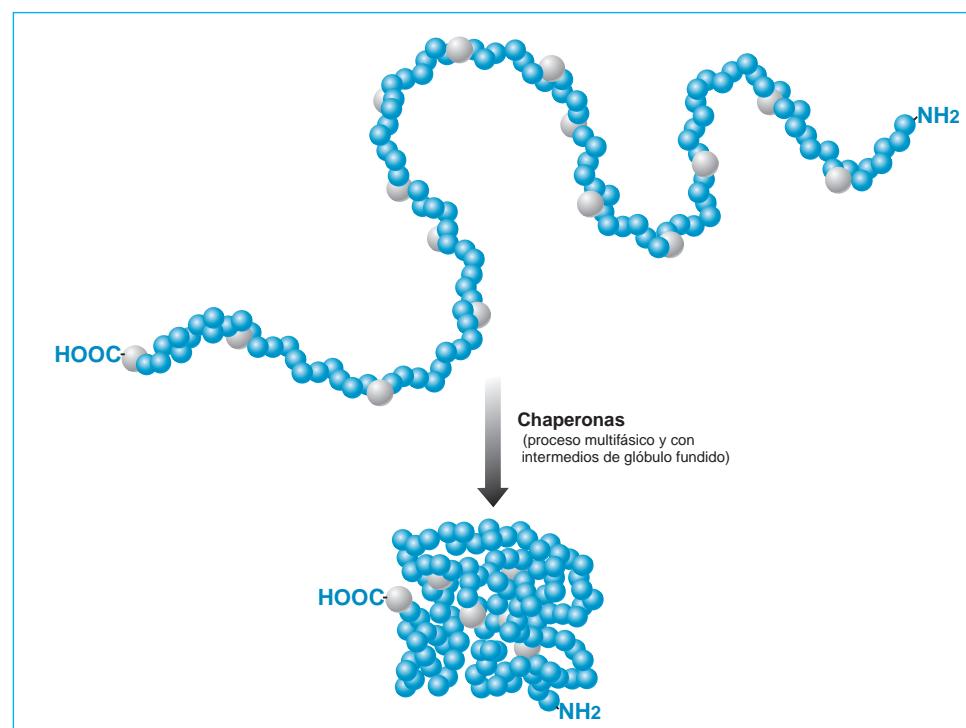


Figura 7-17. Plegamiento de una cadena peptídica después de su síntesis. Las chaperonas dirigen la adquisición tridimensional nativa de la proteína, a través de intermedios llamados de glóbulo fundido (molten globule).

sión de la cadena, lo que posibilita que se alcance la primera forma globular o *glóbulo fundido* (*molten globule*). Pero estos centros de nucleación no son evidentes cuando la proteína está desplegada después de la desnaturalización. Por ello, la renaturalización es un proceso muy poco frecuente, mientras que las proteínas sintetizadas *de novo* por las células sí consiguen adquirir su estructura nativa con gran eficacia. Este proceso suele iniciarse cuando las cadenas están todavía en proceso de crecimiento, sin finalizar su síntesis, por lo que la zona N-terminal contiene más elementos direc-

tores que la zona C-terminal. Además, el plegamiento no es espontáneo, y cuando la proteína se está sintetizando en la célula (véase el Cap. 21) existen una serie de proteínas llamadas *chaperoninas* o *chaperonas*, que dirigen el plegamiento correcto de la cadena (Fig. 7-17). Así se explica de forma cualitativa la irreversibilidad de la mayoría de las desnaturalizaciones. La adquisición de la estructura nativa es, pues, un proceso gobernado de forma muy distinta cuando ocurre por primera vez que en una supuesta renaturalización.

RESUMEN

- Las proteínas son las principales y más versátiles biomoléculas de la célula. Están formadas por α -aminoácidos. Los α -aminoácidos son moléculas que contienen, al menos, un grupo amino ($-\text{NH}_2$) y otro ácido ($-\text{COOH}$) sobre el mismo átomo de carbono, el $\text{C}\alpha$. Este carbono completa sus cuatro sustituyentes con un H y un radical orgánico que se llama cadena lateral y los caracteriza. Los nombres de los aminoácidos se abrevian con un código de tres letras o de una letra mayúscula.
- Según su naturaleza, los 20 aminoácidos proteicos se dividen en cuatro grupos: apolares, polares con carga neutra, aniónicos o ácidos y catiónicos o básicos. Además, en algunas proteínas estos aminoácidos pueden modificarse de formas muy variadas, como dimerizaciones, fosforilaciones, hidroxilaciones, etcétera, y en el metabolismo intervienen otros aminoácidos no proteicos y productos de su descarboxilación (aminas biogénas) y desaminación (cetoácidos).
- Entre las propiedades fundamentales de los aminoácidos libres se encuentran la actividad óptica y el comportamiento anfótero. Excepto en la glicina, el $\text{C}\alpha$ es quiral y da lugar a 2 estereoisómeros. La inmensa mayoría de los aminoácidos naturales es de la serie L. Respecto a su comportamiento ácido/base en disolución todos presentan 2 constantes ácidas (pK_1 o pK_{COOH} y pK_2 o pKNH_3^+) y algunos, una tercera pK_R en su cadena lateral, y las distintas especies posibles se distribuyen en función del pH según la ecuación de Henderson-Hasselbalch. El punto isoeléctrico (pI) se define como el pH al cual la carga neta total es nula.
- Los aminoácidos se unen mediante el enlace peptídico dando péptidos. Las proteínas son polipéptidos, y la diferencia entre péptidos y proteínas se basa principalmente en el tamaño, pero es ambigua. Existen oligopéptidos de gran importancia biológica que actúan como hormonas, neurotransmisores, etcétera. Las proteínas, más grandes, se clasifican según su composición (en simples y conjugadas), forma (globulares y fibrosas), solubilidad y función. Los dos últimos criterios son más informativos pero variados. Todas tienen una estructura tridimensional llamada estructura nativa, esencial para llevar a cabo su función. Su complejidad hace que se establezcan 4 niveles de estudio, primario, secundario, terciario y cuaternario.
- La estructura primaria define la secuencia de aminoácidos en la o las cadenas polipeptídicas que forman la proteína, desde el N- al C-terminal.
- La secundaria introduce ciertos elementos de simetría que pueden encontrarse en toda o en una parte de la proteína. Las más frecuentes son la hélice α y la hoja plegada o lámina β . La primera es dextrógira, con las cadenas laterales hacia el exterior de la hélice. Cada residuo gira 100° respecto al anterior. Los grupos peptídicos ($-\text{CONH}-$) forman enlaces por puentes de hidrógeno que la estabilizan. La lámina β son cadenas en zig-zag siguiendo las aristas de una hoja plegada. Los puentes de hidrógeno aparecen enlaces peptídicos de cadenas vecinas, aunque en este caso pueden ser intercatenaria o intracatenarios.
- La estructura terciaria consiste en el plegamiento espacial completo de cada cadena, con el conjunto de fuerzas que la gobiernan (puentes disulfuro, de hidrógeno, hidrofóbicas, iónicas, catión- π , de van der Waals etc.). En muchos casos, la estructura terciaria contiene zonas compactas de entidad topológica propia, los dominios, que son un nivel de organización intermedio entre la secundaria y la terciaria.
- La estructura cuaternaria depende del número de cadenas o monómeros que contiene una molécula de proteína y su disposición espacial.
- Las proteínas fibrosas tienen estructuras secundarias casi coincidentes con la terciaria, y la cuaternaria es una fibra tridimensional formada por muchos monómeros, caso de las α -queratinas y β -queratinas. La proteína fibrosa humana más abundante es el colágeno. Su estructura primaria es singular, pues la glicina se repite cada tres residuos, y es muy abundante la prolina, como tal o hidroxilada. Por tanto, la secuencia Gly-X-(OH)Pro, se encuentra muy repetida. Las cadenas se pliegan en unidades de tropocolágeno, una hélice tritrenzada dirigida por el pequeño tamaño de la glicina y los puentes de hidrógeno de la hidroxiprolina, que se asocian para formar la fibra de colágeno.
- La mayor parte de las proteínas globulares forman disoluciones coloidales, debido a su naturaleza poliónica y macromolecular. Las proteínas presentan un punto isoeléctrico (pI) que depende de su composición de aminoácidos. A $\text{pH} < \text{pI}$, las proteínas son cationes, y a $\text{pH} > \text{pI}$, aniones. Su solubilidad depende de factores como la presencia de contraiones o el grado de solvatación. Su tamaño no permite el paso por membranas semipermeables, haciendo posible la ultrafiltración y la diálisis, con el efecto Donnan. Las proteínas de membrana no son solubles por los residuos hidrofóbicos expuestos en su periferia, pero pueden solubilizarse en micelas por tratamiento con detergentes.

- La pérdida de la estructura tridimensional nativa de la proteína se llama desnaturalización. Este proceso se produce por factores físicos y químicos, como el calor, pH extremos, entre otros. Debido al mantenimiento de la estructura primaria, la desnaturalización podría ser reversible, y en determinadas condiciones producirse la renaturalización, pero, en la gran mayoría de los casos, es irreversible. Los mecanismos que

dirigen a una cadena polipeptídica a adoptar su conformación nativa son multifásicos, aunque en la cadena existen posiciones críticas que actúan de centros de nucleación y pueden guiar el plegamiento. El proceso en una cadena recién formada está favorecido respecto a la posible renaturalización *in vitro* porque, entre otros factores, la célula tiene chaperonas que dirigen el plegamiento correcto de la cadena.

EVALUACIÓN

1. (B). Nomenclatura abreviada de los aminoácidos. Se corresponden:
 1. Glicina - G.
 2. Tirosina - Y.
 3. Aspartato - D.
 4. Triptófano - W.

a b c d e

2. (A). Suponiendo que el aminoácido glutamato tiene unos valores de pKs de 1.9, 3.1 y 10.5 para sus grupos α -carboxilo, γ -carboxilo y α -amino, se puede afirmar que su pI valdrá:
 - a. 6.2
 - b. 2.5
 - c. 6.8
 - d. 5.16
 - e. No se puede determinar si no se conoce su estructura molecular completa.

3. (C). El pI del aminoácido arginina es mayor que el de la alanina PORQUE la cadena lateral del primero es mayor en tamaño que la del segundo.

a b c d e

4. (B). Estructura primaria de las proteínas:
 1. Se refiere a la secuencia de los aminoácidos en la cadena polipeptídica.
 2. Como indica su nombre, la presentan sólo las proteínas más importantes del cuerpo humano.
 3. Las proteínas comienzan a nombrarse por el extremo amino terminal.
 4. Es la misma en todas las proteínas fibrosas conocidas.

a b c d e

5. (A). En relación con la α -hélice de las proteínas:
 - a. Es característica del colágeno.
 - b. Se estabiliza por puentes de hidrógeno intercatenarios.
 - c. Cada vuelta de la hélice comprende aproximadamente 3.6 residuos.
 - d. Es característica de las proteínas fibrosas, como la fibroína de la seda.
 - e. Está mayoritariamente presente en todas las proteínas.

6. (A). Actividad óptica de los aminoácidos:
 - a. Todos los aminoácidos proteínicos son ópticamente activos.
 - b. Los aminoácidos naturales normalmente son de la familia D.
 - c. Sólo hay un aminoácido, la treonina, que posea dos centros de asimetría.
 - d. La forma predominante de la glicina es la L.
 - e. Nada de lo anterior es cierto.

7. (A). Indicar cuál, entre las siguientes relaciones, es incorrecta:
 - a. Ovoalbúmina - proteína de reserva en las aves.
 - b. Elastina - proteína estructural.
 - c. Insulina - proteína hormonal.
 - d. Inmunoglobulina G - proteína de defensa.
 - e. Caseína - enzima.

8. (A). La formación de un enlace peptídico entre dos aminoácidos o péptidos:
 - a. Se realiza a gran velocidad y espontáneamente, con sólo mezclar dos aminoácidos en disolución.
 - b. El equilibrio está desplazado termodinámicamente hacia la formación del enlace.
 - c. Está más favorecido cuanto mayor sea el tamaño de los péptidos que van a formarlo.
 - d. Es un proceso endergónico.
 - e. Nada de lo anterior es cierto.

9. (C). El mantenimiento de la estructura terciaria de una proteína globular en disolución se debe al concurso de diversas interacciones PORQUE, aunque la fuerza de unión de cada una sea pequeña, existen en gran número.

a b c d e

10. (A). Las interacciones entre aspartato y lisina que afectan a la estructura terciaria de una proteína son preferentemente:
 - a. Electrostáticas de atracción.
 - b. Enlaces por puente de hidrógeno.
 - c. Hidrofóbicas.
 - d. Enlaces covalentes.
 - e. Ninguna de las anteriores.

11. (A). La alanina posee unos valores de $pK_1 = 2.35$ y $pK_2 = 9.87$. Por tanto, es cierto que:
 - a. A $pH = 2.35$, la especie predominante es $[\text{Ala}]$.
 - b. A $pH = 3.35$ es $[\text{Ala}^+] = 10[\text{Ala}]$.
 - c. A $pH = 6.11$ es $[\text{Ala}^+] >> [\text{Ala}]$.
 - d. A $pH = 4.35$ es $[\text{Ala}^+] = 100[\text{Ala}]$
 - e. A $pH = 10.87$ es $[\text{Ala}^+] = 10[\text{Ala}]$

12. (B). Son derivados directos de aminoácidos los siguientes cetoácidos:
 1. α -Cetoglutárico.
 2. Oxalacético.
 3. Pirúvico.
 4. Acetilacético.

a b c d e

EVALUACIÓN (continuación)

13. (C). Los agentes desnaturalizantes, como el calor, incrementan la solubilidad acuosa de una proteína PORQUE la desnaturalización deja expuestos los grupos hidrofóbicos que usualmente están situados hacia el interior de la proteína.
- a b c d e
14. (A). Si el pK_2 del grupo α -amino de la Lys es 8.9, a un pH 6.9 se cumplirá que la relación existente entre las especies Lys^+ y Lys^{+2} será:
- a) 1
b) 10
c) 100
d) 0.01
e) 0.1
15. (A). ¿Cuál de las siguientes relaciones entre aminoácidos y grupos orgánicos de la cadena lateral es FALSA?
- a) Histidina / Pirrólico
b) Triptófano / Indólico
c) Arginina / Guanidinio
d) Tirosina / p-Hidroxifenilo
e) Valina / Isopropilo
16. (B). Composición del colágeno:
 1) Tiene un alto contenido en Gly.
 2) Tiene un alto contenido en Trp y Cys.
 3) Tiene un alto contenido en Pro.
 4) Los residuos de Pro o HO-Pro se repiten cada 3 residuos en las cadenas que forman el tropocolágeno.
- a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Aloy P, Russell RB: The third dimension for protein interactions and complexes. *TiBS* 2002; 27: 633-638.
- Atkins JF, Gesteland R: The 22nd amino acid. *Science* 2002; 296, 1409-1410.
- Broglia RA: De los núcleos atómicos a las proteínas. *Inv y C* 2002; junio: 54-61.
- Cortijo M, López-Lacomba JL, García-Blanco F *et al*: Estabilidad de las proteínas. *Inv y C* 1991; diciembre: 82-89.
- Gallivan JP, Dougherty DA: Cation- π interactions in structural biology. *Proc. Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 9459-9464.
- Hogg PJ: Disulfide bonds as switches for protein function. *TiBS* 2003;28: 210-214.
- Lee WT: An Interactive Introduction to Protein Structure. *Biochem Mol Biol Educ* 2004; 32: 170-172.
- May BCH, Govaerts C, Prusiner SB *et al*: Prions: so many fibers, so little infectivity. *TiBS* 2004; 29: 162-165.
- Richards FM: Plegamiento de las proteínas. *Inv y C* 1992; marzo: 26-30.
- Sigman JA: Thermodynamic Properties of Peptide Folding. *Biochem Mol Biol Educ* 2004; 32: 265–268.
- Viguera AR: Estructura y estabilidad de las proteínas. *Inv y C* 2003; marzo: 70-77.

ÁCIDOS NUCLEICOS

8

8.1 INTRODUCCIÓN

Con el nombre de ácidos nucleicos se conoce a un grupo de macromoléculas que participan en el proceso de transferencia de la información genética entre las distintas generaciones celulares y en la expresión de dicha información, plasmada en la síntesis de un conjunto de proteínas concretas.

Existen dos tipos generales de ácidos nucleicos: el *ácido desoxirribonucleico (ADN)* y el *ácido ribonucleico (ARN)*. Su nombre hace referencia a que están formados por grupos ácidos (derivados del ácido ortofosfórico, H_3PO_4) y a que fueron localizados inicialmente en el núcleo de las células eucariotas. Hoy en día se sabe que los ácidos nucleicos no sólo están presentes en el núcleo celular, sino que también existe ADN en las mitocondrias y los cloroplastos, y ARN en las mitocondrias, los ribosomas y el citoplasma celular. Igualmente, ambas clases de ácidos nucleicos forman parte de todos los organismos procariotas, mientras que todos los virus conocidos contienen alguno de los dos tipos de ácidos nucleicos.

Desde el punto de vista químico, los ácidos nucleicos son *polinucleótidos*, es decir, moléculas poliméricas formadas por la repetición de unidades sencillas, los *mononucleótidos*, los cuales se mantienen unidos entre sí por medio de un enlace característico denominado *enlace diéster fosfórico o fosfodiéster*. La rotura hidrolítica de estos enlaces produce la transformación de los ácidos nucleicos en una mezcla de desoxinucleótidos (en el caso del ADN) o de ribonucleótidos (en el caso del ARN). La degradación hidrolítica de estas unidades produce, a su vez, una mezcla de tres componentes característicos de los nucleótidos: ácido ortofosfórico, una pentosa y una base nitrogenada. Mientras que el ADN está formado por cuatro *bases nitrogenadas*, denominadas *adenina (A)*, *guanina (G)*, *citosina (C)* y *timina (T)*, y *2-desoxirribosa* como pentosa, el ARN posee *ribosa* en lugar de desoxirribosa y cuatro bases nitrogenadas: A, G, C y *uracilo (U)* en lugar de timina.

Muchas de las propiedades de los ácidos nucleicos dependen de la estructura y capacidad de formar enlaces de sus componentes unitarios, los mononucleótidos, por lo que es necesario conocer las características fundamentales de los mismos. Además, determinados nucleótidos ejercen por sí

mismos relevantes funciones fisiológicas. Por todo ello, se describen a continuación las propiedades fundamentales de los nucleótidos y de sus componentes.

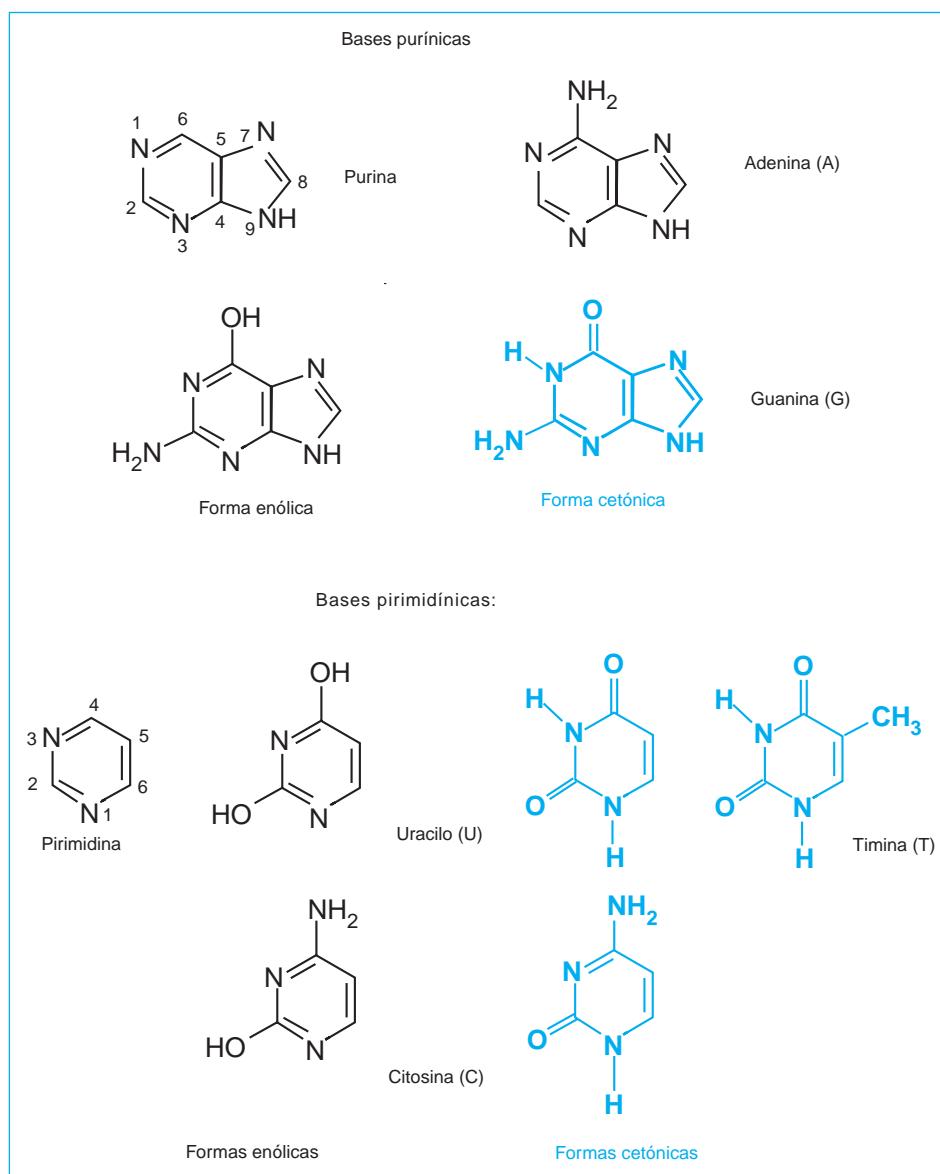
8.2 BASES NITROGENADAS, NUCLEÓSIDOS Y NUCLEÓTIDOS

Las bases nitrogenadas presentes en los ácidos nucleicos derivan de dos estructuras planas cíclicas nitrogenadas básicas: *purina* y *pirimidina*. Las fórmulas de estas moléculas se representan en la Figura 8-1. Las bases pirimidínicas —citosina (C), timina (T) y uracilo (U)— y las purínicas —adenina (A) y guanina (G)— derivan fundamentalmente de la sustitución de átomos de hidrógeno por grupos amino o hidroxilo en diferentes posiciones del anillo pirimidínico o purínico, respectivamente.

Debido al fenómeno de la *tautomería cetoenólica*, las bases nitrogenadas pueden presentar diversas formas tautoméricas en función del pH del medio. A pH fisiológico, la estructura ceto es la forma predominante. Las formas tautoméricas de las bases nitrogenadas difieren en su capacidad para formar enlaces por puentes de hidrógeno, siendo este tipo de enlaces fundamental para las interacciones moleculares de los ácidos nucleicos, que afectan, tanto a su propia síntesis como a la síntesis de las proteínas.

Aparte de las cinco bases nitrogenadas mayoritarias de los ácidos nucleicos, existen otras bases purínicas y pirimidínicas minoritarias que también forman parte de ciertos tipos de ácidos nucleicos (dihidouracilo, 5-metilcitosina, tiouracilo, bases Q e Y, etc.), o bien, se forman como intermedios de las rutas metabólicas de los ácidos nucleicos (hipoxantina, xantina). Hay que destacar que diversos análogos sintéticos de bases purínicas o pirimidínicas (o de nucleósidos) se utilizan como fármacos en la terapia anticancerosa y antiviral (6-mercaptopurina, 6-tioguanina, 5-fluorouracilo, 2',3'-didesoxi-3'-azidotimidina o AZT, etc.).

Los *nucleósidos* se forman por la unión de una base nitrogenada con la D-ribosa (*ribonucleósidos*) o con la 2'-desoxirribosa (*desoxirribonucleósidos*). La unión de la base y el azúcar se produce mediante un *enlace β -N-glicosídico*.



entre el carbono anomérico del azúcar y el nitrógeno N1 de la pirimidina o el nitrógeno N9 de la purina. La posibilidad de rotación del enlace C—N glicosídico determina que los nucleósidos puedan adoptar diferentes conformaciones espaciales en disolución (*syn*, *anti*, etc.). En la Figura 8-2 se esquematiza la estructura de los nucleósidos y en la Tabla 8-1 se relacionan los nucleósidos más comunes.

La adición de un grupo fosfórico o fosfato a un nucleótido origina un *nucleótido* (*ribonucleótido* o *desoxirribonucleótido*, en función de la pentosa). Los nucleótidos que incorporan un sólo grupo fosfato se denominan *nucleósidos monofosfato* (NMP), siendo los más abundantes aquellos en los que el grupo fosfato se encuentra unido al carbono 5'

de la pentosa (Fig. 8-2). El enlace que mantiene unido el grupo fosfato al nucleósido es un éster fosfato. Cuando el enlace éster se forma entre el ácido fosfórico y las posiciones C2' o C3' de la ribosa o C3' de la desoxirribosa, se obtienen nucleósidos monofosfato 2' ó 3'. En algunos casos, el grupo fosfórico forma dos enlaces éster entre los hidroxilos 3' y 5' de la ribosa, dando lugar a los denominados *nucleótidos cíclicos*. De ellos, el más importante es el denominado AMP cíclico (AMPc), que es una molécula que ejerce importantes funciones como regulador del metabolismo, formándose en la célula en respuesta a la acción de diferentes hormonas, para funcionar como un segundo mensajero (Fig. 8-3). Otros tipos de nucleótidos existentes

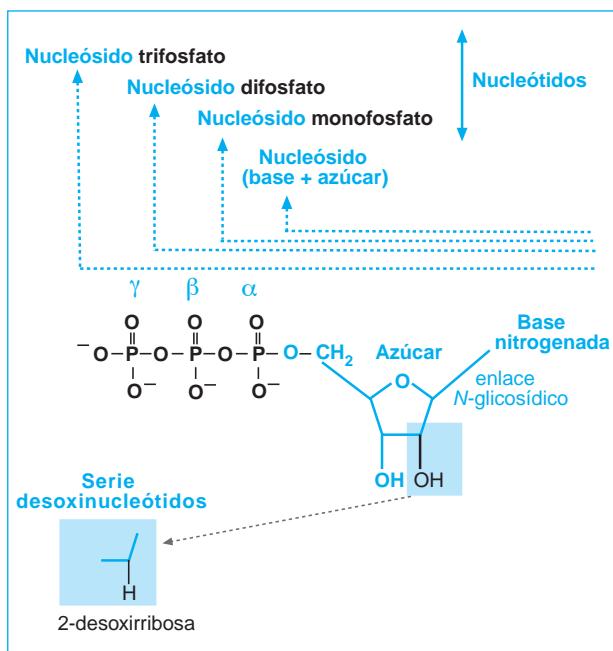


Figura 8-2. Estructura general de los nucleósidos y nucleótidos.

en la célula son los *nucleósidos difosfato* (NDP) y los *nucleósidos trifosfato* (NTP), que incorporan uno o dos grupos fosfato al grupo fosfato de la posición 5'. Los nucleósidos trifosfato (tanto ribonucleósidos trifosfato, NTP, como desoxirribonucleósidos trifosfato, dNTP) son las unidades estructurales que sirven para la síntesis de los ácidos nucleicos, aunque algunos de ellos, como el ATP (Fig. 8-3) o el GTP (guanosina trifosfato) ejercen, además, importantes funciones intracelulares, tanto en las reacciones de intercambio energético y fosforilación de proteínas (ATP), como en la modulación de gran número de proteínas reguladoras (GTP). Por último, cabe resaltar que ciertos nucleótidos forman parte de determinadas coenzimas, como NAD⁺, FAD, coenzima A, etc. (véase el Cap. 9).

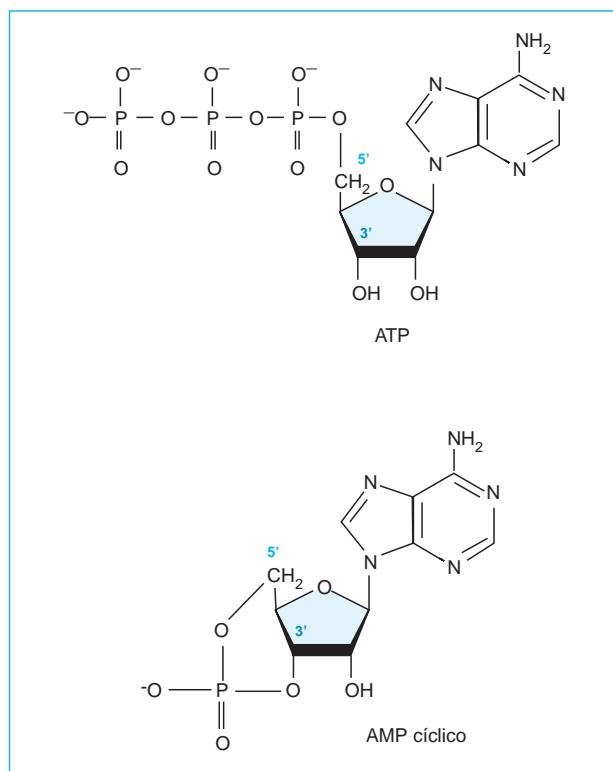


Figura 8-3. Estructuras de nucleótidos: ATP y AMP cíclico.

8.3 POLINUCLEÓTIDOS. ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN

La unión de dos mononucleótidos por enlace fosfodiéster, entre el grupo fosfato de uno de ellos y el hidroxilo del otro, da lugar a un *dinucleótido*. La formación de un nuevo enlace fosfodiéster entre un dinucleótido y un nuevo nucleótido origina un *trinucleótido*, y la incorporación sucesiva de nuevos nucleótidos da lugar a la formación de un *polinucleótido* (Fig. 8-4). En los polinucleótidos naturales, el enlace fosfo-

Tabla 8-1. Nomenclatura de los nucleósidos y nucleótidos (5'-monofosfato)

Tipo de anillo	Sustituyentes	Base	Nucleósido	Nucleótido
Purina	6-amino	Adenina (A)	Adenosina	AMP o ácido adenílico
	2-amino, 6-ceto	Guanina (G)	Guanosina	GMP o ácido guanílico
Pirimidina	2-ceto, 4-amino	Citosina (C)	Citidina	CMP o ácido citidílico
	2,4-diceto	Uracilo (U)	Uridina	UMP o ácido uridílico
	2,4-diceto, 5-metil	Timina (T)	Timidina	TMP o ácido timidílico

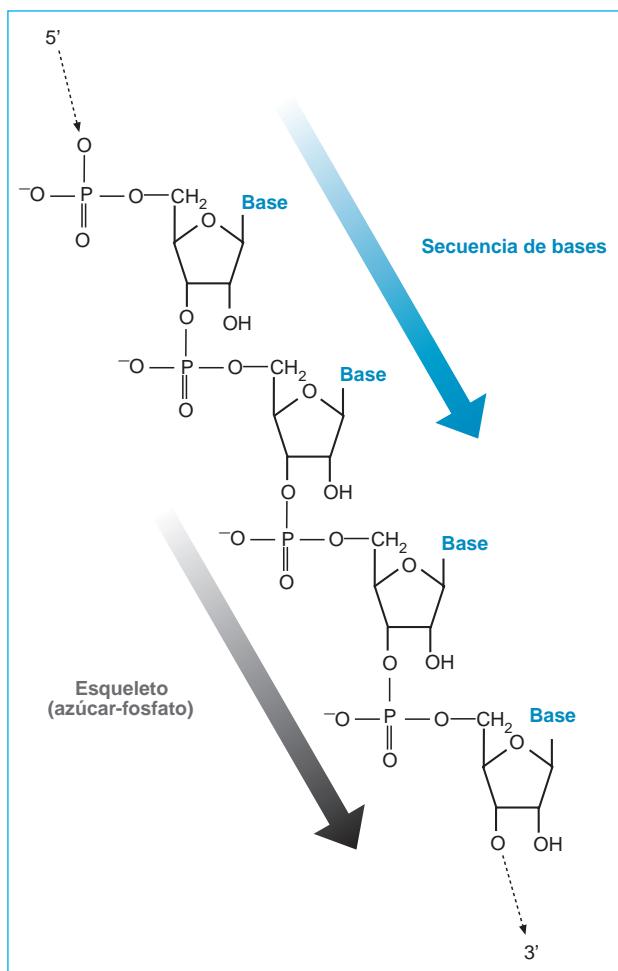


Figura 8-4. Estructura del esqueleto de una cadena polinucleotídica de ARN.

diéster une las posiciones 5' y 3', por lo que se denomina *enlace fosfodiéster 5' → 3'*. Mientras que los polinucleótidos naturales están formados generalmente por cadenas polinu-

cleotídicas de gran longitud (hasta millones de nucleótidos), en el laboratorio es posible sintetizar cadenas polinucleotídicas pequeñas, que se conocen con el nombre de *oligonucleótidos* u «oligos», y que tienen gran importancia dentro de las técnicas de análisis de los ácidos nucleicos (véase el Cap. 23 y el Recuadro 8-1).

La estructura química básica de las moléculas de los ácidos nucleicos es una cadena polinucleotídica formada por la repetición de unidades (nucleótidos), unidas por enlaces típicos: enlaces fosfodiéster entre la posición 5' de un nucleótido y la 3' del nucleótido adyacente (Fig. 8-5). Así pues, la cadena polinucleotídica está formada por un *esqueleto* de uniones pentosa-fosfato alternantes, comunes a cualquier molécula de ácido nucleico, y una sucesión de bases nitrogenadas unidas a las pentosas por enlaces N-glicosídicos, que forman la denominada *secuencia*. El esqueleto de la cadena polinucleotídica tiene una determinada polaridad, marcada por la unión de los grupos fosfato a diferentes posiciones de la pentosa. Se toma como sentido normal de la cadena el de 5' a 3', por lo que la secuencia de bases a lo largo de la cadena se suele leer en el sentido 5' → 3'.

Las moléculas de ADN son relativamente estables, pero por hidrólisis dan lugar a cuatro bases nitrogenadas (A, G, C y T), 2-desoxirribosa y fosfato. La composición de bases nitrogenadas es característica de cada ADN en particular, existiendo en todos los ADN una proporción determinada entre las mismas: así, la concentración molar de A es igual a la de T, mientras que la de G es igual a la de C. Esto determina que conociendo el porcentaje G+C se pueda saber el contenido de cada una de las bases. El valor de G+C varía entre los ADN de especies diferentes, siendo constante para todas las células de un individuo de una especie determinada.

Las moléculas de ARN son más inestables que las de ADN, y por hidrólisis producen bases nitrogenadas (cuatro bases, fundamentalmente: A, G, C y U, aunque algunos tipos

Recuadro 8-1. DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS

Los ácidos nucleicos son moléculas incoloras, cuya detección y cuantificación se puede llevar a cabo de diferentes maneras. En disoluciones de ácidos nucleicos purificados, éstos se pueden cuantificar mediante la medida de la absorbancia de luz ultravioleta (todas las

bases nitrogenadas absorben radiación UV, especialmente la de 260 nm). Otros métodos incluyen la transformación en compuestos coloreados, que se pueden cuantificar. El ARN y el ADN se cuantifican así por medio de reactivos específicos de ribosa (orcinal) o desoxirribosa (difenilamina). Los ácidos nucleicos (principalmente, el ADN) intercalan bromuro de etidio (y otras moléculas orgánicas planas) entre las bases nitrogenadas, exaltando la fluorescencia de

dicho compuesto, por lo que los fragmentos o moléculas de ADN de diferente tamaño, separados por electroforesis en geles de agarosa, se pueden detectar mediante incubación con bromuro de etidio y exposición a luz UV. Las moléculas de ácidos nucleicos pueden marcarse también con nucleótidos que contienen un isótopo radiactivo del fósforo (^{32}P), lo que facilita su detección por medio de autoradiografías o radioluminiscencia.

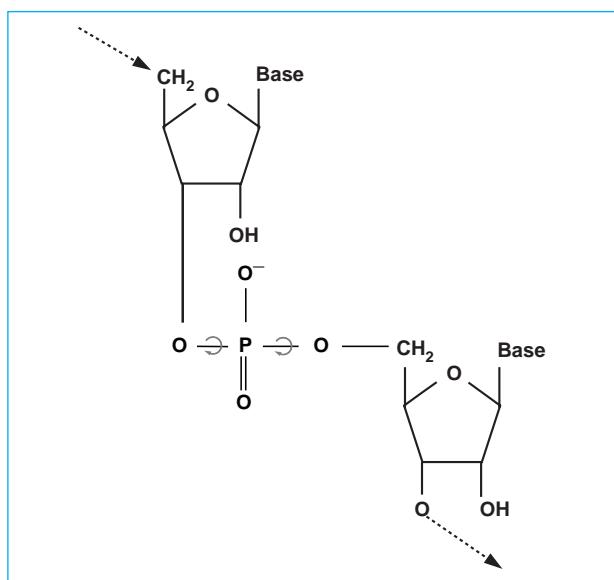


Figura 8-5. Enlace fosfodiéster.

de ARN presentan bases modificadas en su composición), ribosa y fosfato. Las moléculas de ARN albergan una proporción variada de bases, no existiendo entre ellas relaciones similares a las encontradas en el ADN. Existen distintos tipos de ARN, con propiedades y funciones más diversas que las que se encuentran en el ADN (Tabla 8-2).

Las moléculas de ARN sirven como portadoras de la información genética en determinados tipos de virus, mientras que en la célula, el ARN puede llevar a cabo funciones de transmisor temporal de parte de la información genética (*ARN mensajero, ARNm*), o bien, participar en el proceso de síntesis de proteínas o como componente esencial de parte de la maquinaria biosintética: *ARN de transferencia (ARNt)* y *ARN ribosomal (ARNr)*. Algunos tipos de ARN sirven como precursores de otros tipos de ARN (p. ej., *ARN nuclear heterogéneo, ARNhn*) o participan en la formación de otras partículas celulares, como los *espliceosomas*, las partículas de reconocimiento de señales, o de la enzima *telomerasa*, entre otros. Recientemente se ha puesto de manifiesto la existencia de

Tabla 8-2. Diferentes tipos de ARN

Denominación	Tamaño N.º aproximado clases (nucleótidos)	diferentes	Distribución (E: eucariotas; P: procariotas)
ARN mensajero (ARNm)	Variable	Millares	E, P
ARN nuclear heterogéneo (ARNhn)	Variable	Millares	E
ARN ribosomal 5 S	120	1-2	E, P
ARN ribosomal 5,8 S	155	1	E
ARN ribosomal 16 S	1600	1	P
ARN ribosomal 18 S	1900	1	E
ARN ribosomal 23 S	3200	1	P
ARN ribosomal 28 S	5000	1	E
ARN de transferencia (ARNt)	80	Decenas	E, P
ARN nuclear pequeño (ARNsn)	60-200	Decenas	E
ARN citosólico pequeño (ARNsc)	90-300	Decenas	E, P
ARN nucleolar pequeño (ARNsno)	Varias decenas	Varias	E
ARN interferente pequeño (ARNsi)	21	Centenares	E
ARN micro (ARNmi)	21	Centenares	E
ARN mitocondrial (ARNmt) (ARNr, ARNt, ARNm)	Variable	37	E
ARN viral (ARNv)	Variable	Decenas	E, P

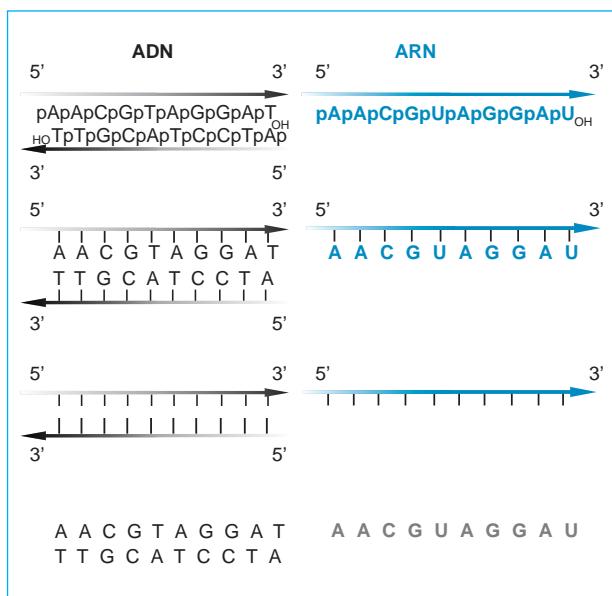


Figura 8-6. Diversas formas abreviadas de representación de las cadenas y secuencias de ácidos nucleicos.

pequeñas moléculas de ARN bicatenario de pequeña longitud (19-23 nucleótidos), denominado *ARN interferente pequeño* (ARNsi) y de pequeñas cadenas de ARN con estructura de horquilla que se denominan *ARNmicro* (ARNmi) que ejercen funciones de regulación génica importantes (véase el Cap. 22).

Las cadenas polinucleotídicas de ADN y ARN son similares; sólo se diferencian en que la pentosa es 2-desoxirribofa en el ADN y ribosa en el ARN, y en que el ADN utiliza timina en lugar de uracilo, que es típica del ARN. La ausencia del hidroxilo en la posición 2' del azúcar en el ADN, confiere una mayor estabilidad a los enlaces fosfodiéster; por ello, las cadenas de ADN son más estables que las de ARN. El que las moléculas de ADN posean T en lugar de U permite que las desaminaciones espontáneas que transforman C en U en el ADN den lugar a la aparición de una base anómala en dicho ADN, alteración que puede ser corregida por sistemas que eliminan el uracilo como base extraña del ADN, reparación que no podría hacerse si el uracilo fuese un componente normal del ADN.

En la Figura 8-6 se representan varias formas abreviadas de cadenas polinucleotídicas de ADN y ARN. En el esquema-

to de la cadena polinucleotídica, debido a la presencia de los grupos fosfato, se localiza un gran número de cargas negativas (Fig. 8-7), mientras que las pentosas y las bases nitrogenadas no se encuentran ionizadas a pH fisiológico. Las moléculas polinucleotídicas se comportan como *polianiones*, que adoptan una conformación más estable mediante el plegamiento espacial de la cadena.

8.4 ESTRUCTURA DEL ADN

8.4.1 Estructura secundaria del ADN

Diferentes tipos de estudios han puesto de manifiesto que la mayor parte de las moléculas de ADN corresponden a estructuras largas, flexibles y de aspecto filamento en disolución, las cuales pueden adoptar estructuras más empaquetadas y compactas al interactuar con otros componentes en el interior de la célula. Las fibras de ADN presentan un grosor casi constante y una estructura repetitiva, que es independiente de la frecuencia u orden de las cuatro bases nitrogenadas.

La forma predominante de las moléculas de ADN es una estructura de *doble hélice* (o *díplex*) formada por dos cadenas polinucleotídicas que se enrollan helicoidalmente, una alrededor de la otra, sobre un eje imaginario central (Fig. 8-8). Las dos cadenas se disponen de forma *antiparalela* (ambas cadenas discurren sobre el eje con direcciones opuestas), quedando en el exterior de la estructura los grupos que constituyen el esqueleto de la cadena (cargas negativas), mientras que las bases se encuentran apiladas en el interior y dispuestas casi perpendicularmente al eje de la doble hélice. Todas las bases de cada una de las cadenas se encuentran interaccionando con las de la cadena opuesta por medio de *enlaces por puentes de hidrógeno*, formando pares de bases que comparten plano, apilados paralelamente a lo largo del interior de la estructura, siendo 0.34 nm la separación entre cada par. La hélice se va enrollando con giro a la derecha, dando una vuelta completa cada 3.4 nm, es decir, cada diez pares de bases. La estructura helicoidal presenta dos surcos de diferente anchura, denominados surco mayor (2.2 nm) y surco menor (1.2 nm), siendo el grosor de la hélice de 2 nm.

Las dos cadenas de la doble hélice tienen secuencias complementarias, ya que sólo están permitidos los apareamientos específicos entre bases, adenina con timina y guani-

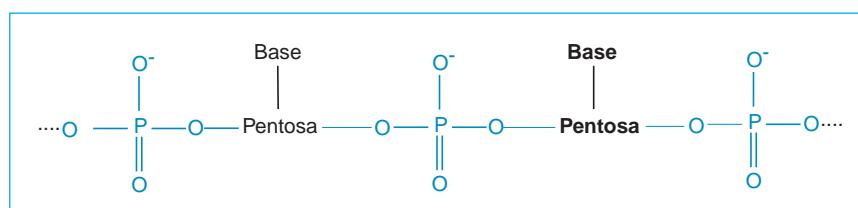


Figura 8-7. Naturaleza polianiónica de los ácidos nucleicos. Existe una carga negativa por cada grupo fosfato.

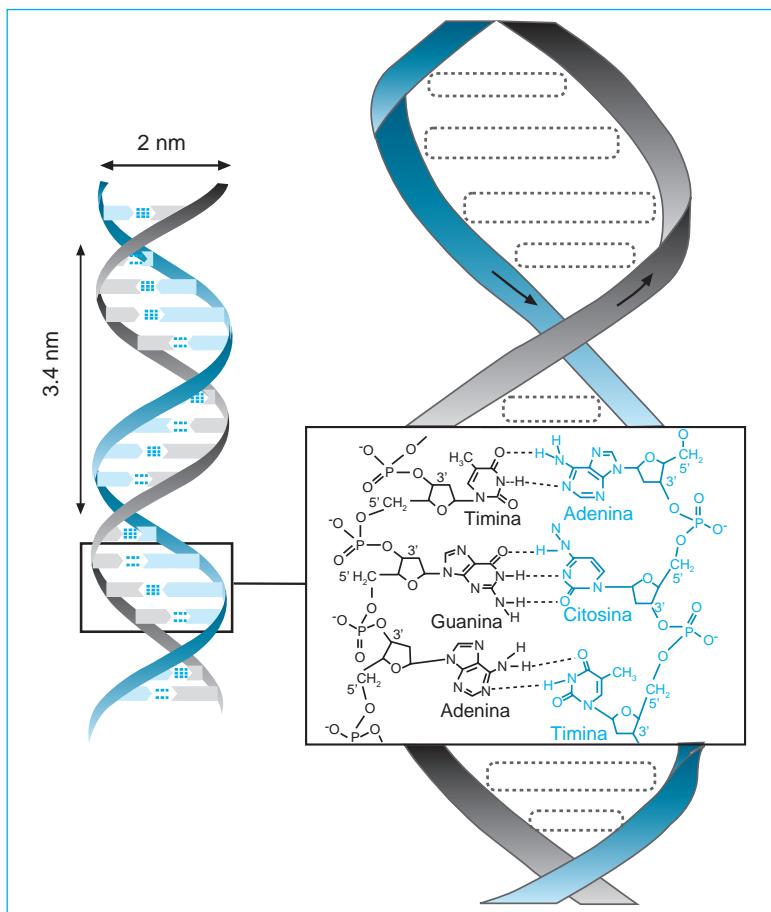


Figura 8-8. Esquema de la estructura de doble hélice del ADN. A la derecha, disposición antiparalela de las cadenas y detalle de tres pares de bases, unidas por enlaces por puentes de hidrógeno.

na con citosina (*apareamientos de tipo Watson y Crick*). Los pares de bases así formados contienen una purina y una pirimidina, lo que contribuye a que el tamaño de los pares de bases sea semejante. El apareamiento específico viene determinado por las características estructurales de cada base para formar enlaces por puentes de hidrógeno (Fig. 8-9a). La posibilidad de tautomería de las bases puede afectar, en ocasiones, a la capacidad formadora de dichos enlaces, dando lugar a apareamientos incorrectos (Fig. 8-9b). Los enlaces por puentes de hidrógeno entre las bases complementarias y las interacciones de van der Waals entre los pares de bases apiladas, son fuerzas que contribuyen a estabilizar la estructura helicoidal.

La forma de la doble hélice anteriormente descrita, denominada *ADN B* o de Watson y Crick, es la que predomina en la mayoría de los ADN; sin embargo, debido a la flexibilidad de conformación del esqueleto polinucleotídico y a la elasticidad de los ángulos de enlace entre azúcar y bases, son posibles otras formas isoméricas, como la forma *ADN A* (posiblemente, presente en los híbridos ADN/ARN) y la forma *ADN Z* (cadena en zig-zag y con giro a la izquierda) (Fig. 8-10). Es

possible que existan transiciones entre unas formas y otras por la interacción con determinadas proteínas. También se ha observado la formación de hélices entre tres cadenas polinucleotídicas (*triple hélice, triplex o triplice*) o estructuras de cuatro hebras (denominadas *cuartetos*), pero sólo entre secuencias polinucleotídicas determinadas (ricas en G) que posibilitan la formación de enlaces por puentes de hidrógeno diferentes a los propuestos por Watson y Crick.

8.4.2 Tamaño y forma de las moléculas de ADN

Las moléculas de ADN presentan tamaños diferentes, según el origen o la procedencia del mismo, que oscilan desde miles de pares de bases (las más pequeñas) hasta millones de pares de bases (p.b.) (Tabla 8-3). Generalmente, el tamaño del ADN se expresa en kilobases (1 Kb=1000 pares de bases), lo que supone, de acuerdo con la estructura del ADN, que cada Kb tiene una longitud de 340 nm y un peso molecular aproximado de 660 kDa. Esto determina que el cromosoma de *E. coli*, por ejemplo, posea una longitud de contorno próxima a 1 mm, tamaño que es muy superior al de la

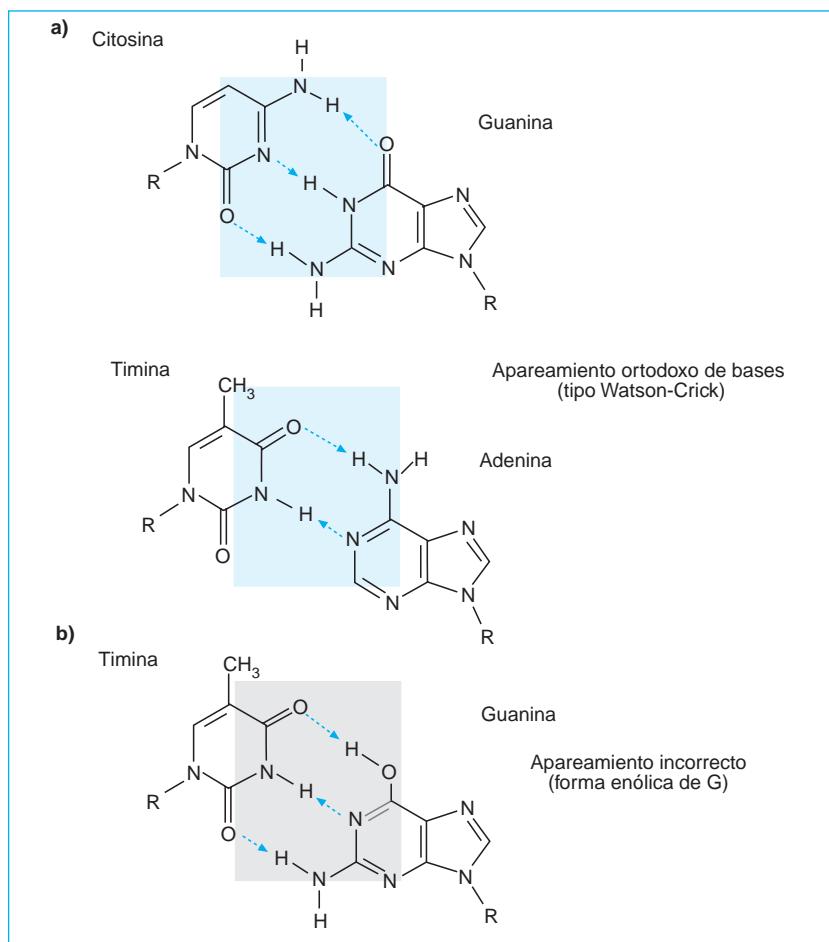


Figura 8-9. Apareamientos por puentes de hidrógeno de los pares de bases en el ADN.
a) Apareamientos ortodoxos C-G y A-T.
b) Apareamiento incorrecto T-G.

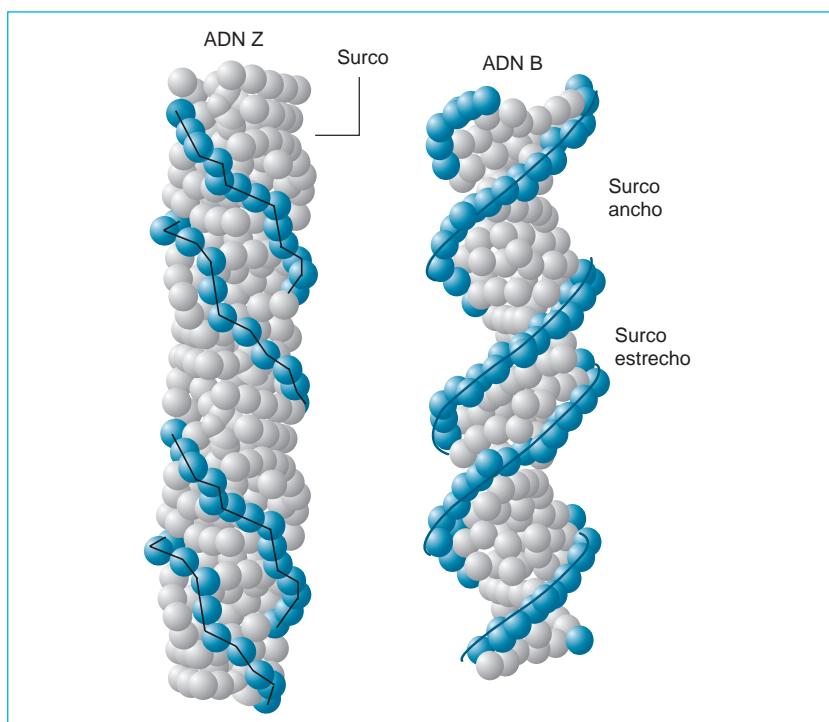


Figura 8-10. Estructuras helicoidales del ADN, ADN Z y ADN B.

Tabla 8-3. Tamaño de algunas moléculas de ADN

Espece	Tamaño genoma haploide (pb)	Longitud (μm)	Número de cromosomas (genoma haploide)
Virus polioma	5100	1.7	1
Fago ϕ X-174	5400	1.8	1
Fago λ	48 600	16	1
<i>Escherichia coli</i>	$4.2 \cdot 10^6$	1360	1
Levadura	$13.5 \cdot 10^6$	4600	17
Ratón	$2.5 \cdot 10^9$	860 000	21
Ser humano	$3.2 \cdot 10^9$	1100 000	23

bacteria, lo que hace suponer que el ADN en el interior de la célula debe de encontrarse bajo formas que permitan un mayor empaquetamiento de la molécula. También, se suelen utilizar los términos Mb (10^6 p.b.) y Gb (10^9 p.b.).

En cuanto a la forma, hay moléculas de *ADN lineal* (la mayoría de los cromosomas de las células eucariotas), y otras, en que los extremos de ambas cadenas se encuentran unidos formando estructuras de *ADN circular* (como los cromosomas bacterianos, del ADN mitocondrial, del ADN de plásmidos y de ciertos virus). Aunque la mayor parte del ADN es bicatenaria, los genomas de determinados virus están formados por moléculas circulares de ADN monocatenario. Debido a la flexibilidad de conformación de las cadenas de ADN, las moléculas, tanto lineales como circulares, pueden sufrir deformaciones o curvaturas que permiten su plegamiento y empaquetamiento en estructuras más compactas. El ADN lineal de los eucariotas se pliega alrededor de proteínas para dar estructuras helicoidales y solenoidales, mientras que en el ADN circular, las cadenas se superenrollan sobre sí mismas dando lugar al *ADN superenrollado* (Fig. 8-11).

8.4.3 Dinámica del ADN: desnaturización y renaturalización

Debido a que las uniones entre las dos cadenas del ADN son débiles (enlaces por puentes de hidrógeno e interacciones entre bases), es posible separar parcial o totalmente ambas cadenas con un aporte bajo de energía. La separación parcial de segmentos de las cadenas tiene lugar de manera natural durante los procesos relacionados con la síntesis de los ácidos nucleicos. La separación total de las cadenas de un ADN bicatenario en disolución recibe el nombre de desnaturización, pudiendo conseguirse fácilmente elevando el pH de la disolución o calentándola. La temperatura requerida para

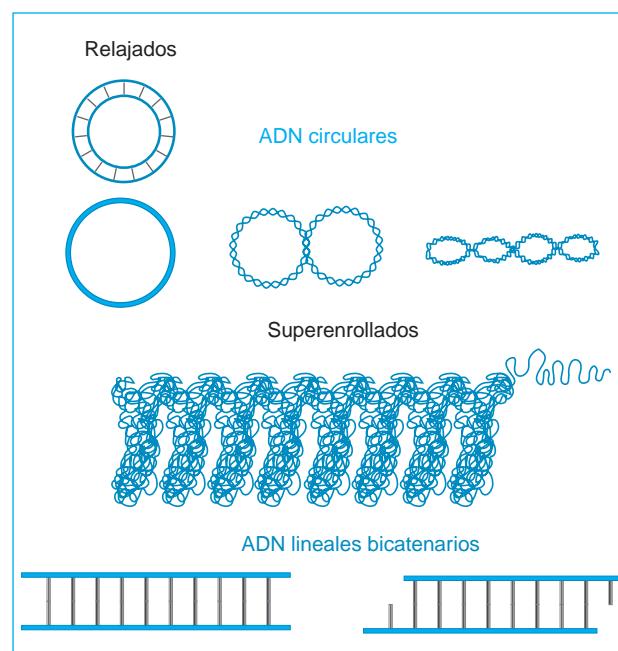


Figura 8-11. Diversos niveles de empaquetamiento de las moléculas de ADN. Parte superior: ADN circular bicatenario y monocatenario con estructuras relajadas o superenrolladas. Parte inferior: ADN lineal bicatenario con extremos romos y extremos monocatenarios y ADN lineal superenrollado.

separar las cadenas está directamente relacionada con el contenido en G+C, ya que cuanto más elevada sea la proporción de G+C, mayor será el promedio de enlaces por puentes de hidrógeno, puesto que el par G-C posee tres enlaces por sólo dos del par A-T. El proceso es reversible; al restablecerse las condiciones normales, las cadenas complementarias vuelven a aparearse para formar la estructura bicatenaria, mediante el proceso de renaturalización (Fig. 8-12).

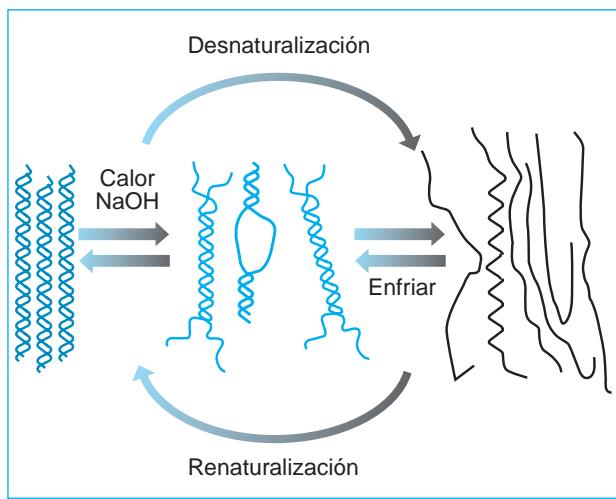


Figura 8-12. Desnaturalización y renaturalización del ADN. Transición desde estructuras bicatenarias a monocatenarias, pasando por estructuras intermedias.

La temperatura necesaria para conseguir el 50% de la desnaturalización es conocida como temperatura de fusión (T_m).

8.4.4 Empaquetamiento del ADN en los cromosomas

El ADN del núcleo de las células eucarióticas presenta una organización estructural compleja, en la que participa un conjunto de proteínas diferentes que interactúan con las cadenas lineales de ADN para formar la *cromatina*. La estructura de la cromatina es variable, pudiendo encontrarse en estados poco compactos en forma de fibras delgadas (10 nm de grosor) o en otros más empaquetados, como el que presentan los cromosomas durante la metafase, pasando por una serie de niveles estructurales de organización intermedios.

La cromatina está formada por ADN y proteínas en cantidades aproximadamente equivalentes, siendo las *histonas* las proteínas que más abundan en la misma (Recuadro 8-2 y Fig. 8-13). Las histonas son proteínas de bajo peso molecu-

Recuadro 8-2.
PAPEL FUNCIONAL DE LAS MODIFICACIONES COVALENTES DE LAS HISTONAS

Las características estructurales de las *histonas* son muy importantes para su asociación para formar el octámero de histonas y para interactuar con el ADN, dentro de los nucleosomas de la fibra de cromatina. La estructura de la cromatina, a su vez, está influenciada por su interacción con otras proteínas estructurales de tipo no-histona y con proteínas activadoras y represoras que participan en el control de la actividad de los genes (véase el Cap. 23).

Las histonas H2A y H2B tienen estructuras muy parecidas, presentando un dominio central globular y dominios C y N terminal poco estructurados, siendo este último muy rico en aminoácidos básicos (lisina y arginina) y donde se concentra, por tanto, la carga positiva de la proteína. Las histonas H3 y H4 poseen estructuras similares a las anteriores, pero con dominios C terminales más cortos (Fig. 8.13a).

Las histonas H3 y H4 forman un tetramero con el que interactúan dos

dímeros de H2A.H2B, para formar el octámero, del que sobresalen las colas amino terminales (Fig. 8-13a). En los dominios N-terminales es donde se encuentran los residuos que pueden ser modificados covalentemente para dar lugar a las formas fosforiladas, metiladas y acetiladas de las histonas, en las que se disminuye de manera sustancial

la carga positiva. Esta alteración de la carga positiva de las histonas puede afectar a su interacción con la molécula de ADN. Los dominios C-terminales de H2A y H2B se modifican por ubiquitinación. (Fig. 8.13b). La modificación covalente de las histonas influye en la condensación y función de la cromatina.

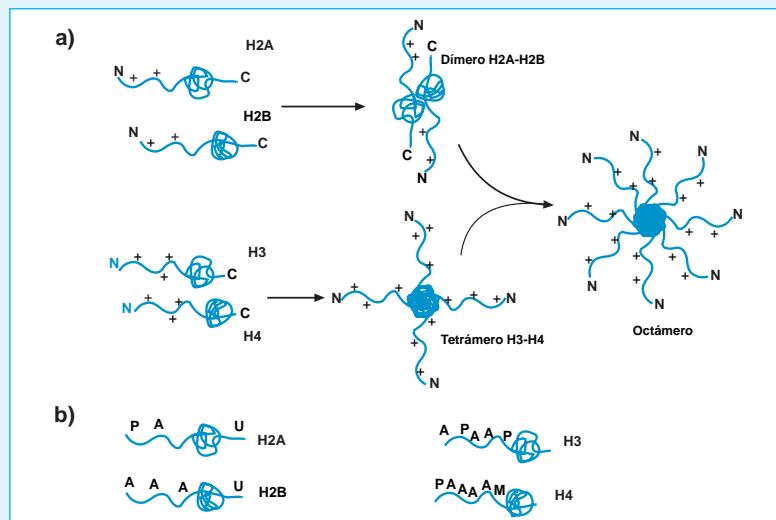


Figura 8-13. Estructuras de las histonas. a) Esquema de las cadenas de las histonas y su interacción para formar dímeros, tetrameros y octámeros. b) Modificación covalente de las histonas: P (fosforilación), A (acetilación), M (metilación) y Q (ubiquitinación).

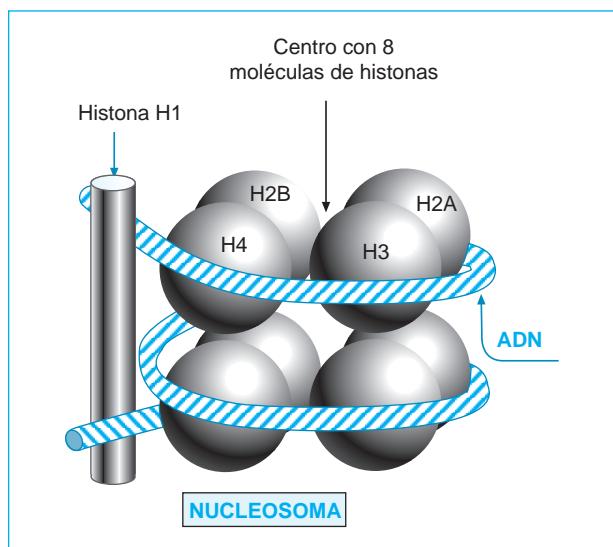


Figura 8-14. Esquema de la estructura del nucleosoma. Se representa el octámero de las histonas en el centro, asociado a ADN bicatenario enrollado sobre éste y la histona H1 a la izquierda, unida al ADN de unión.

lar, ricas en aminoácidos básicos, por lo que están cargadas positivamente a pH fisiológico. Existen cinco histonas principales en las células de los mamíferos, denominadas H1, H2A, H2B, H3 y H4. Muestran una gran conservación de secuencia, siendo las histonas H3 y H4 idénticas en los diferentes tipos de vertebrados. Cuatro de ellas se asocian para

dar lugar a un octámero formado por dos copias de las histonas H2A, H2B, H3 y H4. Una porción del ADN, de aproximadamente 200 pares de bases, se enrolla sobre el octámero de histonas y da lugar a la formación del *nucleosoma*, que es el componente unitario y repetitivo de la fibra de cromatina de 10 nm. El ADN se enrolla dando un poco menos de dos vueltas sobre el octámero (aproximadamente 80 p.b. por vuelta), por lo que alrededor de 146 p.b. están en estrecho contacto con el octámero, mientras que el resto, denominado *ADN espaciador o ADN conector*, que se encuentra unido a la histona H1, une nucleosomas adyacentes (Fig. 8-14). La fibra fina de cromatina, parecida a un collar de cuentas, adquiere un plegamiento espacial para dar lugar a una fibra más gruesa (30 nm), en la que los nucleosomas están organizados en forma de solenoide, ocupando 6 nucleosomas cada vuelta helicoidal de la fibra (Fig. 8-15). Este plegamiento empaqueta el ADN unas 50 veces, aunque la cromatina, para alcanzar la organización del *cromosoma metafásico*, requiere un empaquetamiento adicional de unas 100 veces. No se conoce con exactitud cómo se consigue este plegamiento final, aunque en él participan numerosas proteínas que no son histonas.

A diferencia del ADN nuclear, el ADN mitochondrial está formado por un genoma de ADN circular, que presenta una organización mucho más sencilla, mientras que los cromosomas bacterianos circulares se encuentran condensados gracias a proteínas que se asemejan a las histonas de los eucariotas, aunque no alcanzan el grado de estructuración de la cromatina nuclear.

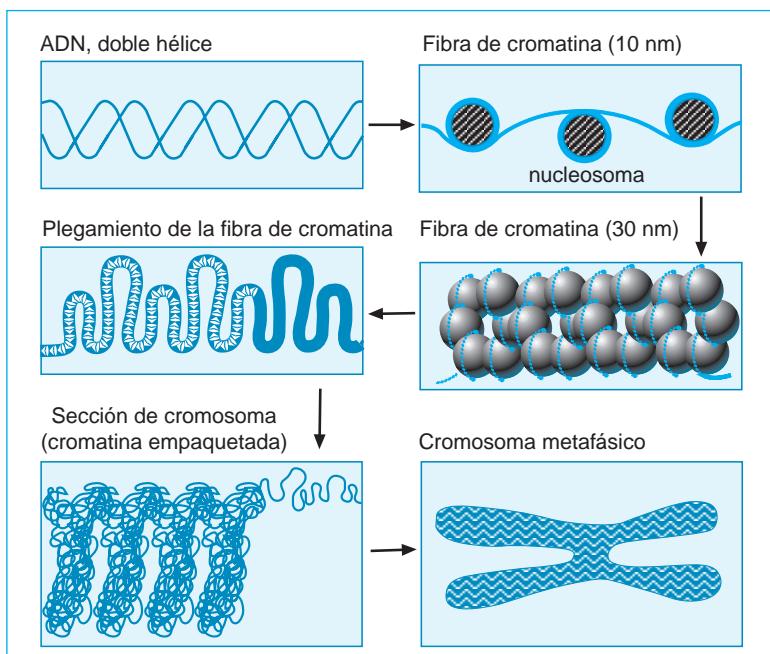


Figura 8-15. Diversos niveles de estructuración de la cromatina. La doble hélice de ADN se estructura interaccionando con las histonas, para formar la fibra de cromatina de 10 nm, la cual, a su vez, adopta una organización solenoidal para formar la fibra de 30 nm. Ésta interacciona con otras proteínas nucleares para formar bucles superenrollados que alcanzan el grado máximo de compactación o empaquetamiento durante la metafase.

8.5 CARACTERÍSTICAS DEL ARN

Como ya se ha comentado en la introducción, las moléculas de ARN son polinucleótidos semejantes al ADN, pero en los que participa ribosa en lugar de desoxirribosa y la base uracilo en lugar de timina. Aparte de estas diferencias, las moléculas de ARN suelen ser, en la mayor parte de los casos, monocatenarias y de tamaño mucho menor que las moléculas de ADN, oscilando desde alrededor de 20 nucleótidos en las moléculas de ARNs_i hasta más de 10 000 en algunas moléculas de ARNh_n.

En las moléculas de ARN monocatenario se pueden producir apareamientos intracatenarios entre regiones cortas que poseen secuencias complementarias, lo que da lugar a la formación de pequeñas zonas bicatenarias, denominadas *horquillas*, o a *abultamientos* u otra serie de estructuras (Fig. 8-16a). La formación de determinadas estructuras de este tipo en las moléculas de ARN naciente puede controlar el proceso de la transcripción. En otros casos, estas estructuras están presentes en las moléculas maduras de ARN (caso de los ARNt y ARNr), en las que existen diferentes regiones de *apareamiento intracatenario*, que dan lugar a la formación de estructuras helicoidales características (Fig. 8-16b). En algunos casos se conoce la estructura tridimensional de las moléculas de ARN, como en los ARNt, en donde el plegamiento espacial de la cadena del ARN es fundamental para el mantenimiento de la función biológica (véase el Cap. 21). El conocimiento de la secuencia de moléculas de ARNm también permite predecir la posible existencia de estructuras en horquilla en la región 5' no traducida. Aunque la mayor parte de las moléculas de ARN maduro tiene una estructura tridimensional determinada, durante el proceso de su síntesis la molécula de ARN forma estructuras helicoidales híbridas por apareamiento antiparalelo con la cadena de ADN que sirve de molde. Además, en experimentos *in vitro*, las cadenas de ARN en disolución pueden asociarse con cadenas de ADN complementario por un proceso denominado hibridación, que es de gran interés para analizar y cuantificar secuencias de ácidos nucleicos.

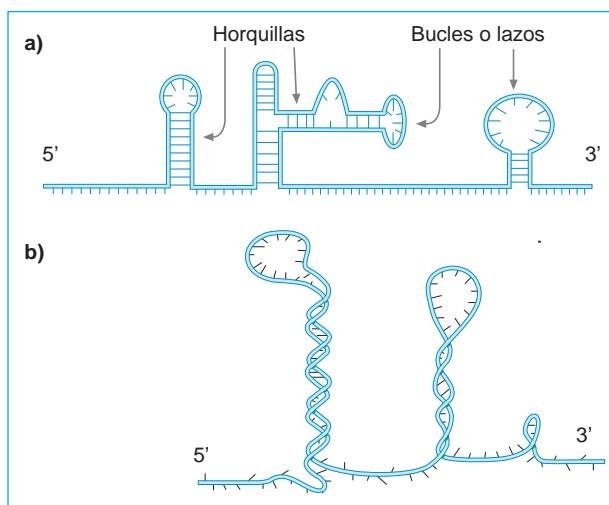


Figura 8-16. Esquema de la estructura de las moléculas de ARN monocatenario. a) Alternancia de zonas monocatenarias (bases no apareadas) con bicatenarias, formadas por apareamiento intracatenario entre secuencias de bases complementarias. b) Detalle de la estructura tridimensional helicoidal que pueden adquirir las zonas bicatenarias.

En las células, el ARN es más abundante que el ADN, ocupando el ARNr alrededor del 80% del total, seguido del ARNt, con un 12%. El ARNm representa alrededor del 3% del ARN celular, si bien esta fracción es la más variada, ya que engloba millares de moléculas con secuencias diferentes. Otras moléculas de ARN minoritario, como los ARNmi o ARNs_i, ejercen funciones reguladoras de la función de otras moléculas de ARN. Aunque la función de la mayor parte de los ARN está relacionada con la síntesis de proteínas, se han identificado moléculas de ARN que tienen actividad catalítica semejante a la de las enzimas, por lo que se las conoce con el nombre de *ribozimas*. Otras moléculas de ARN sintético, denominadas *aptámeros*, se unen de manera específica a ligandos, que van desde moléculas pequeñas hasta macromoléculas, de forma semejante a la unión entre un anticuerpo con su antígeno (véase el Cap. 31). Estas moléculas tienen un gran interés por su aplicación en biotecnología y medicina.

RESUMEN

- Los ácidos nucleicos son polinucleótidos que participan en la transmisión y expresión de la información genética.
- Las unidades constituyentes de los ácidos nucleicos son los mononucleótidos, formados por la unión de una base nitrogenada (purina, como adenina [A] o guanina [G]; pirimidina, como citosina [C], timina [T] o uracilo [U]), con una pentosa (ribosa o 2'-desoxirribosa) por medio de un enlace N-glicosídico (nucleósido) y con la esterificación del hidroxilo de la posición 5' del azúcar con ácido fosfórico.
- En los polinucleótidos, los mononucleótidos se unen por enlaces fosfodiéster entre las posiciones 5' de uno de ellos y la 3' del siguiente, dando lugar a grandes moléculas lineales polianiónicas con un extremo 5' y otro 3'.
- Existen dos clases de ácidos nucleicos: el ácido ribonucleico, o ARN, y el ácido desoxirribonucleico, o ADN, que tienen una composición química, estructura y funciones diferentes.
- El ARN es un polirribonucleótido lineal y monocatenario, cuya secuencia viene determinada por el orden de las bases A, G, C y U en la dirección 5' → 3' de la cadena.
- El ADN es un polidesoxirribonucleótido formado por la unión de dos cadenas polinucleotídicas antiparalelas, a manera de una doble hélice y cuyas secuencias son complementarias gracias a los apareamientos específicos de A-T y G-C.
- Las moléculas de ADN bicatenario contienen desde miles a millones de pares de bases, pueden tener forma lineal o circular, y adoptar estructuras superenrolladas más complejas.
- Existe una dinámica de desapareamiento/apareamiento de las cadenas del ADN, siendo éste un proceso reversible de gran importancia para el metabolismo y la tecnología de los ácidos nucleicos.
- En el núcleo de los organismos eucariotas, el ADN se encuentra asociado con proteínas (básicamente con histonas) formando la cromatina, cuyo grado de compactación, varía en función de su interacción con múltiples factores internos, distinguiéndose entre heterocromatina y eucromatina.
- Las moléculas de ARN suelen ser monocatenarias y de tamaño mucho menor que el del ADN (desde pocas decenas hasta varios miles de nucleótidos), clasificándose en distintos tipos, según sus características o función.
- El ARN más abundante en la célula es el ARN ribosomal, seguido del ARN de transferencia. El ARN nuclear heterogéneo y el ARN mensajero forman un grupo con una gran variedad de moléculas diferentes, existiendo otros tipos de ARN minoritarios, como el ARN nuclear pequeño, el ARN citosólico pequeño, el ARN nucleolar o los ARN antisentido (ARN micro o ARN interferente) que desempeñan diversas actividades funcionales.

EVALUACIÓN

1. (A). Estructura y composición del ADN:
- Las bases pirimidínicas son de mayor tamaño que las purínicas.
 - Los enlaces por puente de hidrógeno mantienen unidas a las bases consecutivas de la secuencia de una monohebra del dúplex.
 - Cuanto más elevado es el porcentaje de (C+G), mayor suele ser la temperatura de fusión.
 - El ADN mitocondrial tiene una estructura de triple hélice y una longitud de $2 \cdot 10^6$ pares de bases.
 - Todo lo anterior es falso.
2. (B). Estructura tridimensional del ADN:
- Las dos cadenas del dúplex se disponen de forma anti-paralela.
 - Las bases nitrogenadas se unen mediante interacciones iónicas.
 - Las moléculas de ADN circular suelen presentar super-enrollamientos.
 - En la forma Z del ADN no existe estructura helicoidal.
- a b c d e
3. (A). Estructura de la cromatina:
- La cromatina está formada fundamentalmente por ARN y proteínas básicas.
 - La cromatina está formada fundamentalmente por ADN e histonas.
 - Las histonas son proteínas de la cromatina que presentan carga negativa.
 - Las histonas son proteínas típicas de las células procarionticas.
 - Hay más de una respuesta correcta.
4. (B). Características de las histonas:
- Son proteínas ricas en aminoácidos básicos.
 - Muestran una gran conservación de la secuencia.
 - Cuatro histonas diferentes se asocian para formar el octámero.
 - La histona H1 es la mayoritaria en el octámero.
- a b c d e
5. (B). Estructura bicatenaria del ADN:
- La forma B sólo la presentan las moléculas de ADN menores de 100 000 pares de bases.
 - Una molécula que contiene el 20% de adenina, poseerá un 20% de citosina.
 - Las bases nitrogenadas se encuentran apiladas en el exterior de la hélice.
 - Las dos cadenas se unen entre sí por medio de enlaces covalentes.
- a b c d e
6. (B). Bases purínicas:
- Sufren tautomería cetoenólica.
 - La capacidad para formar enlaces por puentes de hidrógeno de las formas lactama y lactima es diferente.
 - A pH fisiológico, la forma predominante de la adenina no tiene carga eléctrica.
 - A pH fisiológico, la forma predominante de la guanina es la forma lactima.
- a b c d e
7. (A). Estructura de los ácidos nucleicos:
- En el ARN se pueden producir apareamientos entre las bases A y U.
 - En el ARN existe 3'-desoxirribosa.
 - Las bases se unen al azúcar mediante un enlace entre un C del anillo de la base y el O del C-1 del azúcar.
 - Los grupos fosfato que unen los azúcares del esqueleto polinucleotídico presentan carga positiva a pH fisiológico.
 - Hay más de una respuesta correcta.
8. (C). La mayoría de las moléculas de ARN existentes son monocatenarias PORQUE, al tener ribosa en lugar de desoxirribosa, las cadenas de ARN, aún teniendo secuencia complementaria, no se pueden aparear nunca.
- a b c d e
9. (A). Nucleótidos, nucleósidos y bases nitrogenadas:
- La base timina es típica del ARN.
 - El nucleósido de guanina es la guanidina.
 - El AMPc es un nucleótido.
 - Los nucleósidos se forman por unión de la base nitrogenada al hidroxilo 5' de la pentosa.
 - Hay más de una respuesta correcta.
10. (B). Histonas y cromatina:
- La carga positiva de las histonas se concentra en el extremo C-terminal.
 - En el octámero de histonas participan dos unidades de la histona H1.
 - La acetilación de la cromatina se produce fundamentalmente por unión del grupo acetilo al grupo amino de la citosina.
 - Cada octámero de histonas interacciona con unas 2 000 pares de bases.
- a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Argüelles JC: *La doble hélice de ADN: mito y realidad*, Murcia, Universidad de Murcia, 2003.
- Clark BTC: The crystallization and structural determination of tRNA. *TiBS* 2001; 26: 511-514.
- Cech TR: Función enzimática del ARN. *Inv y C* 1987; enero: 42-51.
- Demidov VV, Frank-Kamenetskii MD: Two sides of the coin: affinity and specificity of nucleic acid interactions. *TiBS* 2004; 29: 62-71.
- Watson J: *La doble hélice*. Barcelona, Salvat, 1968.
- Weiss MS, Brandl M, Sühnel J *et al*: More hydrogen bonds for the (structural) biologist. *TiBS* 2001; 26: 521-523.
- Wilson HR: The double helix and all that. *TiBS* 1988; 13: 275-278.

9.1 CONCEPTO DE ENZIMA. NATURALEZA E IMPORTANCIA COMO CATALIZADORES

Las células vivas obtienen la energía y los componentes necesarios para su supervivencia mediante reacciones químicas que transcurren constante y ordenadamente. Estas reacciones deben producirse en condiciones relativamente constantes, de pH próximo a la neutralidad y temperatura cercana a 37 °C. En estas condiciones suaves, muchas de ellas no transcurrirían a velocidad apreciable. Para acelerar estos procesos metabólicos, las células poseen catalizadores específicos denominados *enzimas*, que hacen compatibles sus necesidades metabólicas con las condiciones de temperatura, pH y presión del medio celular.

En 1926, Sumner purificó y cristalizó por primera vez una enzima, la *ureasa*, que acelera la hidrólisis de la urea 10¹⁴ veces, respecto a la reacción espontánea. Tras analizar sus propiedades, propuso que la actividad enzimática estaba asociada a una proteína globular. En el siguiente decenio se cristalizaron otras cinco enzimas y, en todos los casos, se trataba de proteínas. Actualmente, hay catalogadas más de 2 000 enzimas, y se ha confirmado plenamente su naturaleza proteica, aunque también se ha demostrado que algunas moléculas de ARN tienen capacidad catalítica.

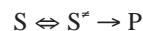
Las enzimas tienen varias características importantes. Poseen una elevada *eficacia catalítica*, pues pueden aumentar millones de veces la velocidad de las reacciones en las que participan. Además, como cualquier catalizador, las enzimas recuperan su estado inicial tras cada ciclo catalítico. Por otra parte, son catalizadores específicos, tanto para el tipo de reacción, como para los compuestos sobre los que actúan. Por último, su actividad catalítica puede ser regulada por mecanismos celulares, que varían en función de las necesidades metabólicas de cada momento. Por tanto, las enzimas son componentes esenciales para la célula: permiten que tengan lugar las reacciones necesarias para su desarrollo, de forma ordenada, regulada y adaptada a las circunstancias del organismo.

9.2 CATÁLISIS ENZIMÁTICA

La velocidad de una reacción química depende de factores termodinámicos y cinéticos. La magnitud termodinámica

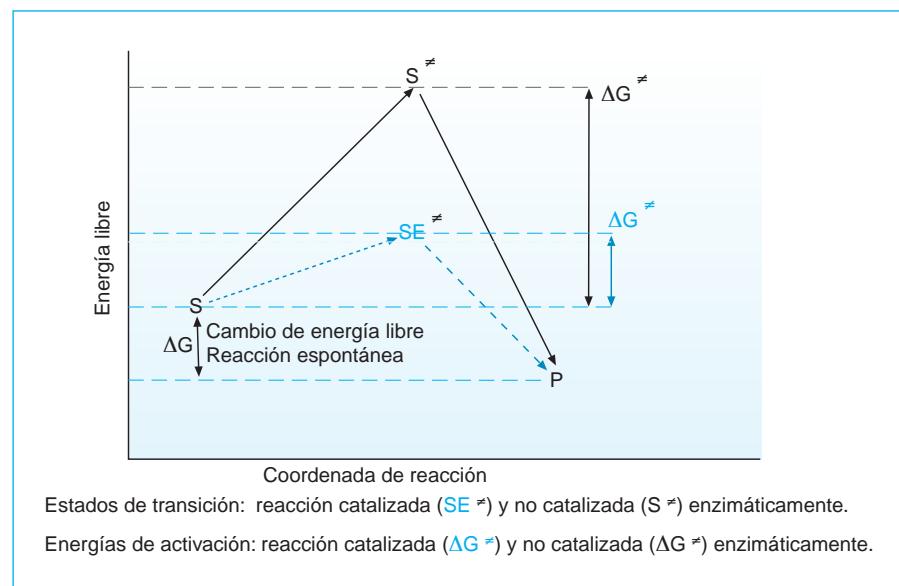
más útil para determinar si un proceso químico es espontáneo es el cambio de energía libre de Gibbs (véase el Cap. 4), que es una medida de la capacidad de un sistema para realizar trabajo. Para que la transformación de un compuesto S (el sustrato) en el producto P transcurra espontáneamente, la energía libre asociada a P debe ser menor que la de S, de manera que el cambio en la energía libre de Gibbs del sistema sea negativo. La diferencia de energía libre entre S y P no sólo determina que la reacción sea o no espontánea; también fija las concentraciones relativas de S y P en el equilibrio.

Sin embargo, el que una reacción sea termodinámicamente posible no implica que transcurra a velocidad apreciable. Algunas reacciones espontáneas pueden ser tan lentas que resulten inobservables. Este aspecto cinético se explica mediante la teoría del *estado de transición*, según la cual la transformación del sustrato S en el producto P se produce a través de un estado de transición, en el que se están rompiendo determinados enlaces y formándose otros nuevos. Este estado de transición está en equilibrio con el sustrato y posee una energía libre superior:



La evolución de la energía libre de las especies implicadas en una reacción se representa en los denominados diagramas de reacción (Fig. 9-1). Según la teoría del estado de transición y los criterios termodinámicos mencionados más arriba, el diagrama de reacción de un proceso espontáneo presenta un ascenso inicial, puesto que la energía asociada al estado de transición es mayor que la del sustrato. Seguidamente, se produce una caída de la energía libre hasta el valor correspondiente al producto, que en un proceso espontáneo debe ser menor que el del sustrato. La diferencia entre la energía libre del estado de transición y la del sustrato se denomina *energía de activación*. Su valor es siempre positivo y constituye una barrera energética para el transcurso de la reacción.

La energía correspondiente a las moléculas del sustrato posee una distribución estadística, alrededor de un valor medio dependiente de la temperatura. Algunas moléculas del sustrato poseen una energía superior a la media, mientras que el nivel energético de otras queda por debajo. Sólo las moléculas



de S con un exceso de energía suficiente para salvar la barrera energética y llegar a S^* pueden evolucionar hasta el producto. La proporción de moléculas de sustrato capaces de cumplir este requerimiento será menor cuanto mayor sea la energía de activación para la reacción considerada. Así, una determinada reacción termodinámicamente favorable, en función de las energías de S y P, puede transcurrir a velocidad inapreciable si el valor de energía libre de activación es alto.

Como cualquier catalizador, las enzimas aceleran las reacciones químicas disminuyendo la energía de activación. El sustrato, tras su unión a la enzima, puede evolucionar hasta el producto por un camino energéticamente más favorable. Al disminuir la barrera energética que separa el sustrato del estado de transición, la presencia de una enzima hace que más moléculas de sustrato sean capaces de transformarse en producto, a igual pH, temperatura, presión y concentración. Las enzimas no modifican la naturaleza del producto final de la reacción. Por tanto, el cambio de energía libre ($\Delta G = G_p - G_s$) es idéntico, esté o no presente el catalizador enzimático. Como el valor de ΔG determina la constante de equilibrio de la reacción, las enzimas no modifican la posición final del equilibrio; tan sólo aceleran la velocidad con la que éste se alcanza.

9.3 EL CENTRO ACTIVO

Las propiedades catalíticas de las enzimas se deben a que éstas contienen un *centro activo*. Se trata de una zona bien delimitada de la proteína enzimática, capaz de unirse al sustrato durante el ciclo catalítico, formando un *complejo enzi-*

ma-sustrato, y de catalizar su transformación. El centro activo es, por tanto, el responsable de la especificidad y de la actividad catalítica de la enzima.

Generalmente, cada enzima sólo reconoce y transforma una biomolécula concreta o un grupo de biomoléculas relacionadas estructuralmente. Sin embargo, el grado de especificidad es variable. Por ejemplo, *glucoquinasa* y *hexoquinasa* son dos proteínas enzimáticas distintas que catalizan la misma reacción, la fosforilación de la glucosa en posición 6 a expensas de ATP. De forma general, dos proteínas distintas que catalicen la misma reacción se denominan *isoenzimas*, y sus propiedades son diferentes. *Hexoquinasa* posee una especificidad relativa, ya que, además de glucosa, también fosforila otras hexosas y algunos de sus derivados. Sin embargo, *glucoquinasa* posee una especificidad casi absoluta por glucosa.

A diferencia de los catalizadores químicos, cuando el sustrato posee carbonos asimétricos, la especificidad de las enzimas también suele provocar el reconocimiento de un determinado estereoisómero. Así, las enzimas implicadas en el metabolismo de los aminoácidos son estereoestereoespecíficas para las formas L. Esta capacidad de las enzimas para reconocer una determinada conformación de los sustratos se ha empleado en algunos casos con fines industriales, para conseguir síntesis estereoestereoespecíficas que no serían factibles con otros catalizadores.

La especificidad de las enzimas se explicó inicialmente mediante el modelo de la *llave y cerradura*, propuesto en 1890 por Fischer, según el cual la forma del centro activo es complementaria a la del sustrato (Fig. 9-2), que encaja perfectamente en éste. Sin embargo, al formarse el complejo

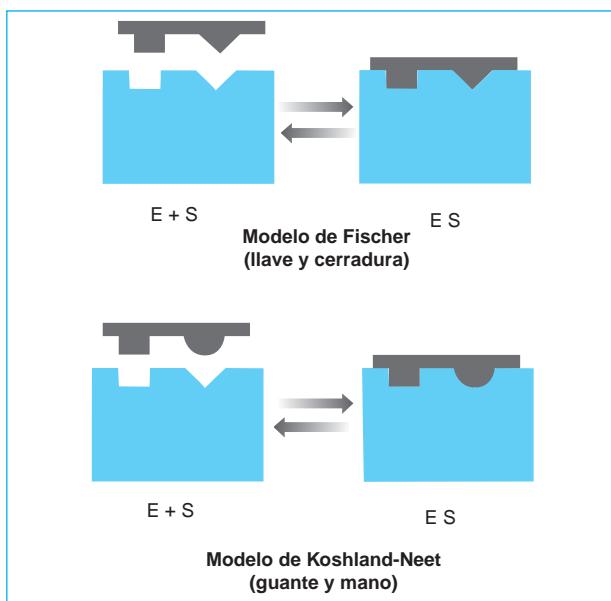


Figura 9-2. Modelos de unión de un sustrato al centro activo de las enzimas. En el modelo de Koshland, a diferencia del modelo de la llave y cerradura de Fischer, se proponen cambios en la forma del sustrato y el centro activo, inducidos por la formación del complejo enzima-sustrato. Esta evolución hacia una mayor complementariedad puede contribuir a la catálisis enzimática.

enzima-sustrato se pueden producir deformaciones en algunos enlaces del sustrato, de la enzima, o de ambos. La fuerza motora de estas deformaciones sería precisamente llegar a alcanzar una mayor complementariedad entre el centro activo y el sustrato, con un mayor número de interacciones termodinámicamente favorecidas (Fig. 9-2). Esta idea fue recogida por Koshland y Neet en 1968 en el modelo del *guante y la mano*, o *teoría del ajuste inducido*, según el cual el centro activo tiene potencial suficiente para unir el sustrato. Como consecuencia de esta unión, su conformación cambia y algunos enlaces del sustrato o el centro activo se deforman hasta alcanzar una mayor complementariedad. Ello facilita la transformación del sustrato en producto. De hecho, la mayor complementariedad del centro activo con el estado de transición parece ser uno de los fenómenos que impulsan la reacción y explican la catálisis enzimática, y puede utilizarse para diseñar moléculas con actividad catalítica (Recuadro 9-1).

Las propiedades del centro activo de una enzima están, por tanto, íntimamente relacionadas con su forma y, en consecuencia, con el tipo y la disposición de las cadenas laterales de los aminoácidos presentes en el mismo. Estas cadenas laterales deben proporcionar puntos de unión para enlazar al sustrato. Aunque, en algunos casos, puedan formarse enlaces

Recuadro 9-1.

LOS ABZIMAS: ANTICUERPOS CON CAPACIDADES CATALÍTICAS

Un aspecto esencial de la catálisis enzimática es que la unión del sustrato y las reacciones subsiguientes se producen en el centro activo, dentro del complejo enzima-sustrato, donde las energías de unión entre la enzima y el sustrato o los intermediarios de la reacción pueden ser considerables. Además, según la teoría del estado de transición, la enzima es más complementaria con el estado de transición de la reacción que con el propio sustrato. El incremento de la energía de unión, que aparece a medida que el sustrato evoluciona hacia el estado de transición, puede ser utilizado para disminuir la energía de activación y, por tanto, contribuir directamente a la catálisis.

Un corolario de esta premisa es que para una reacción dada, cualquier molécula capaz de enlazar con mayor afinidad el

estadio de transición que el propio sustrato, debería poseer una cierta actividad catalítica. Esta premisa se ha comprobado mediante la obtención de anticuerpos con actividad catalítica, denominados abzimas. Para obtener un abzima capaz de catalizar la transformación de un sustrato, se sintetiza un análogo estable del estadio de transición de la reacción de interés y se utiliza como hapteno para inmunizar animales de experimentación. Luego, se aislan las inmunoglobulinas y se analiza su efecto sobre la velocidad de la reacción considerada. Con este diseño experimental se obtuvieron los primeros abzimas en 1986. Desde entonces se han obtenido abzimas capaces de catalizar reacciones de hidrólisis, adición electrofílica, eliminación, racemización, isomerización y otras. Estos éxitos refuerzan la validez de los modelos de catálisis enzimática y abren la puerta al diseño de catalizadores para reacciones no acelerables por enzimas naturales conocidas.

Pero los abzimas podrían ser algo más que creaciones de laboratorio de posible interés teórico-aplicado. De hecho, se han encontrado anticuerpos catalíticos en el ser humano, en condiciones normales o asociados a ciertas enfermedades. Por ejemplo, la leche materna humana contiene abzimas con actividad *quinasa* y otros con actividad *desoxirribonucleasa* que podrían ejercer un papel protector en condiciones fisiológicas. La prevalencia de abzimas parece aumentar en condiciones patológicas, particularmente en las enfermedades autoinmunitarias. Así, el suero de pacientes con tiroiditis, mieloma múltiple o asma contiene abzimas proteolíticos. También se encuentran abzimas que degradan ácidos nucleicos en enfermedades autoinmunitarias, sistémicas, como el lupus eritematoso, la poliartritis reumatoide o la esclerosis en placas. Si bien la existencia de estos anticuerpos está fuera de duda, su papel en la fisiopatología de las enfermedades autoinmunitarias está todavía por determinar.

covalentes transitorios entre grupos reactivos del centro activo y algún intermedio de reacción, los enlaces que se establecen en el complejo enzima-sustrato suelen ser no covalentes y, por tanto, débiles. Por ello, la unión de la enzima y el sustrato es un proceso reversible. Además, el centro activo puede contener residuos de aminoácidos reactivos, capaces de participar en la transformación del sustrato. Puesto que las proteínas se pliegan en estructuras terciarias definidas (véase el Cap. 7), los distintos aminoácidos que participan en el centro activo pueden proceder de zonas alejadas en la estructura primaria de la proteína, aunque se encuentran cercanos en el espacio. Por ello, la forma del centro activo y las propiedades catalíticas de una enzima dependen de la estructura terciaria de la molécula enzimática. La pérdida de esta conformación nativa, o *desnaturalización*, conlleva la pérdida de la actividad enzimática.

9.4 CLASIFICACIÓN Y NOMENCLATURA

Inicialmente, las enzimas se identificaban por un *nombre trivial*, que solía referirse al sustrato preferente de la enzima y acababa normalmente en el sufijo «-asa». Sin embargo, esta nomenclatura no permitía deducir el tipo de reacción catalizada, por lo que era poco informativa. La nomenclatura trivial evolucionó hacia una mayor sistematización, a medida que crecía el número de enzimas conocidas. El nombre de una enzima debe permitir identificar el tipo de reacción que cataliza y su sustrato fisiológico preferente. Pero esta nomenclatura ideal da lugar a nombres largos, a veces incómodos de utilizar. Por ello, en la práctica se emplean dos tipos de nomenclatura, que conservan el sufijo *-asa*. Una de ellas, la *nomenclatura recomendada*, pretende ser informativa y sencilla. La otra, la *nomenclatura sistemática*, es de manejo menos cómodo, pero más específica y rigurosa.

El nombre recomendado es corto e informativo; indica, tanto el sustrato, como el tipo de reacción catalizada. Un ejemplo sería *glucosa oxidasa*, que identifica ambas cosas, de acuerdo con la ecuación:



Sin embargo, la reacción no queda caracterizada totalmente, pues el nombre no especifica el aceptor de los electrones que pierde la glucosa al oxidarse. El nombre sistemático lo hace de forma más completa. En la reacción anterior, sería *α -D-glucosa: oxígeno oxidoreductasa*.

Las enzimas se identifican, además, mediante un número de clasificación, fijado por la Comisión de enzimas de la IUPAC (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada). Este número, precedido por las siglas EC, contiene cuatro dígitos, que designan la clase, subclase, subsubclase y el número de orden de la enzima dentro de una clasificación internacional, que se resume en la Tabla 9-1, y especifica seis *clases*, en función del tipo de reacción catalizada: oxidoreductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, isomerasas y ligasas.

Dentro de cada clase, la *subclase* y la *subsubclase* aportan una información cada vez más precisa acerca de la reacción. Por ejemplo, en la clase 1, las oxidoreductasas, las subclases especifican el grupo donador de los electrones intercambiados en la reacción, y las subsubclases, el aceptor de dichos electrones. Dentro de cada subsubclase, a cada enzima se le asigna un cuarto número, correspondiente al orden en el que se ha incorporado a la clasificación. Volviendo al ejemplo de la *glucosa oxidasa*, su número de clasificación sería EC 1.1.3.4, ya que la subclase 1 incluye las reacciones de oxidación-reducción en las que el donador de electrones es un grupo alcohol y la subsubclase 3 especifica al oxígeno como aceptor de los electrones intercambiados.

Tabla 9-1. Clasificación de las enzimas

Número	Clase	Descripción
1.	Oxidorreductasas	Reacciones de oxidación-reducción (transferencia de electrones)
2.	Transferasas	Transferencia de un grupo químico de un donador a un aceptor
3.	Hidrolasas	Ruptura hidrolítica de algún enlace del sustrato
4.	Liasas	Ruptura no hidrolítica de enlaces
5.	Isomerasas	Reacciones de isomerización
6.	Ligasas (sintetasas)	Formación de enlaces covalentes entre dos sustratos

9.5 FACTORES QUE INTERVIENEN EN LA CATALÍSIS ENZIMÁTICA

Las enzimas son capaces de acelerar las reacciones en las que participan hasta 10^{20} veces. Esta extraordinaria capacidad catalítica se explica por la suma de varios factores, que dependen de las características del centro activo:

- Factores de proximidad y orientación.
- Fenómenos de superficie.
- Factores de distorsión o tensión de enlaces.
- Presencia de grupos reactivos capaces de proporcionar mecanismos de reacción de menor energía de activación.

9.5.1 Factores de proximidad y orientación

Generalmente, las enzimas poseen una elevada afinidad por sus sustratos y los complejos enzima-sustrato se forman con alto rendimiento, incluso en disoluciones diluidas. Supongamos una reacción bimolecular, en la que dos compuestos A y B reaccionan entre sí, dando un producto C. En disolución diluida, la probabilidad de que A y B se encuentren es pequeña, y la reacción transcurrirá lentamente. Sin embargo, la probabilidad de formación de complejos entre la enzima y los sustratos A y B es mayor, debido a la afinidad del centro activo por los sustratos. Además, en estos complejos, las moléculas de A y B pueden quedar en la orientación espacial idónea para reaccionar, mientras que en disolución, muchos de los choques al azar entre A y B se producen con orientaciones desfavorables y son improductivos. Por tanto, las enzimas actúan aumentando la concentración efectiva de los sustratos, aproximándolos con una orientación adecuada.

9.5.2 Fenómenos de superficie

Son aquellos que se relacionan con las particularidades fisiocoquímicas del centro activo. Debido al plegamiento espacial de la proteína, las propiedades del centro activo pueden ser considerablemente distintas de las del medio, y más favorables para que transcurra una determinada reacción. Por ejemplo, un centro activo apolar con baja constante dieléctrica puede estabilizar eficazmente un estado de transición polar, al favorecer las interacciones electrostáticas con cadenas laterales cargadas. Además, puede hacer más accesible el sustrato, al promover su desolvatación.

9.5.3 Factores de distorsión o tensión de enlaces

Estos factores ya se han comentado implícitamente, al describir la teoría del ajuste inducido, según la cual el centro

activo es más complementario con el estado de transición que con el propio sustrato. La unión enzima-sustrato provoca pequeños ajustes estructurales que tienden al estado de transición. La fuerza impulsora de estos ajustes es el mayor número de interacciones termodinámicamente favorables que se establecen entre el estado de transición y el centro activo, como consecuencia de su mejor complementariedad.

9.5.4 Presencia de grupos catalíticos

El centro activo de las enzimas puede contener residuos de aminoácidos capaces de reaccionar con el sustrato, proporcionando vías de menor energía de activación para la reacción. La catálisis se desarrolla por mecanismos generales en las reacciones químicas, que, en este caso, resultan especialmente eficaces porque el sustrato y los grupos catalíticos quedan enfrentados con una orientación idónea. Los residuos catalíticos pueden actuar mediante dos tipos de catálisis: *catálisis general ácido-base* o *catálisis covalente*.

La velocidad de muchas reacciones depende del pH del medio. Por ejemplo, la hidrólisis de un éster necesita un medio básico para proceder a buena velocidad. Esta observación es una expresión de la catálisis general ácido-base que está implicada en reacciones en las que el estado de transición contiene una carga eléctrica inestable. La presencia en el medio de ácidos o bases capaces de intercambiar protones permite compensar o estabilizar la carga del estado de transición. Las enzimas contienen grupos ácidos y básicos con valores de pKa cercanos a la neutralidad, que pueden actuar como catalizadores ácido-base, incluso a pH neutro. El aminoácido más activo y versátil desde este punto de vista es la histidina. El pKa de su grupo imidazol está próximo a 7 (Tabla 7-1), por lo que en condiciones fisiológicas puede actuar como catalizador ácido o básico. Pero el centro activo es una zona de la proteína enzimática con características propias, cuyas propiedades fisicoquímicas pueden ser muy particulares. Ello hace que algunos grupos ionizables presentes en cadenas laterales de aminoácidos del centro activo puedan tener valores de pKa alejados de los del aminoácido libre, pero compatibles con su actuación como catalizadores.

En la catálisis covalente, un grupo químico de la enzima ataca al sustrato formando un intermedio covalente. Este intermedio es una forma transitoria y muy reactiva que evoluciona rápidamente hasta el producto. Un ejemplo es el ciclo catalítico de la *acetilcolinesterasa* (Fig. 9-3). Esta enzima cataliza la hidrólisis de acetilcolina, el neurotransmisor responsable de la contracción de los músculos voluntarios (véase el Cap. 32). La acetilcolina es un éster formado por el ácido acético y un aminoalcohol, la colina. Su hidrólisis libera estos dos compuestos, según la ecuación:

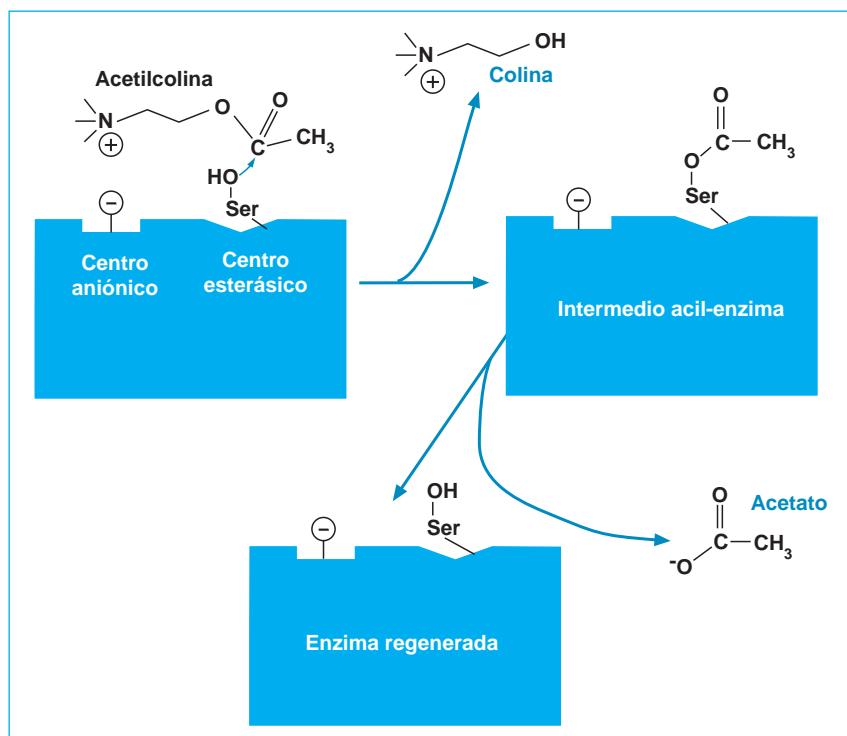
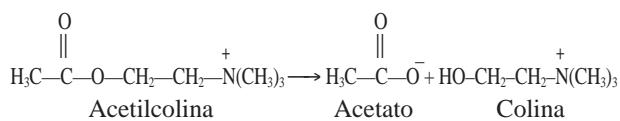


Figura 9-3. Ciclo catalítico de la acetilcolinesterasa. Este ciclo catalítico, que incluye un intermediario, acil-enzima, es un ejemplo paradigmático de la catálisis covalente.



En el centro activo de *acetilcolinesterasa* pueden distinguirse dos subcentros. Un centro aniónico, con carga negativa, establece un enlace salino con el nitrógeno de la acetilcolina, cargado positivamente. Este centro actúa en el reconocimiento y la unión al sustrato. El segundo subcentro, denominado centro esterásico, contiene un residuo de serina responsable de la catálisis. El grupo hidroxilo de la cadena lateral de serina tiene carácter nucleofílico y ataca al carbono carbonílico de la acetilcolina, que posee densidad de carga positiva. La adición de serina al carbono carbonílico provoca la ruptura de acetilcolina, con salida de colina, y formación de un intermediario covalente en el que la enzima está acetilada. Finalmente, el intermediario covalente se hidroliza, liberando acetato y regenerando la forma inicial de la enzima dispuesta para un nuevo ciclo catalítico.

El centro aniónico fija el sustrato en posición óptima respecto al grupo hidroxilo de la serina, lo que facilita el ataque nucleofílico. La combinación de los factores de orientación y la catálisis covalente confiere una enorme eficacia a la *acetilcolinesterasa*. Su *número de recambio*, definido como el número de moléculas de sustrato transformados por segundo y molécula de enzima, es de $25\,000\text{ seg}^{-1}$.

9.6 COENZIMAS Y COFACTORES

Muchas enzimas son proteínas conjugadas, que contienen algún componente de naturaleza no proteica, al que se denomina *cofactor*. El cofactor suele ser esencial para la catálisis enzimática, y junto a la parte proteica de la enzima o *apoenzima*, constituye la *holoenzima*. La naturaleza química de los cofactores es variada: pueden ser iones metálicos (como las *metaloenzimas*), o moléculas orgánicas, llamadas *coenzimas* (Fig. 9-4).

Algunas enzimas requieren uno o más iones metálicos y una coenzima para llevar a cabo su función catalítica. Cuando la coenzima se encuentra unida fuertemente a la apoenzima por enlaces covalentes se denomina *grupo prostético*. En la Tabla 9.2 se relacionan algunos cofactores, así como algunas enzimas en las que participan.

Las coenzimas aportan grupos o moléculas de pequeño tamaño, pero con una alta reactividad dentro de la estructura tridimensional de la enzima. La presencia de cofactores aumenta el número y la variedad de grupos químicos que pueden actuar en la catálisis, haciendo posibles reacciones que, quizás, no podrían desarrollarse si sólo participaran grupos funcionales de los aminoácidos proteicos.

Existen alrededor de una docena de coenzimas. Este número es mucho menor que el de enzimas que las utilizan, ya que una misma coenzima puede ser empleada por varias enzimas diferentes. Por ejemplo, la coenzima NAD^+ parti-

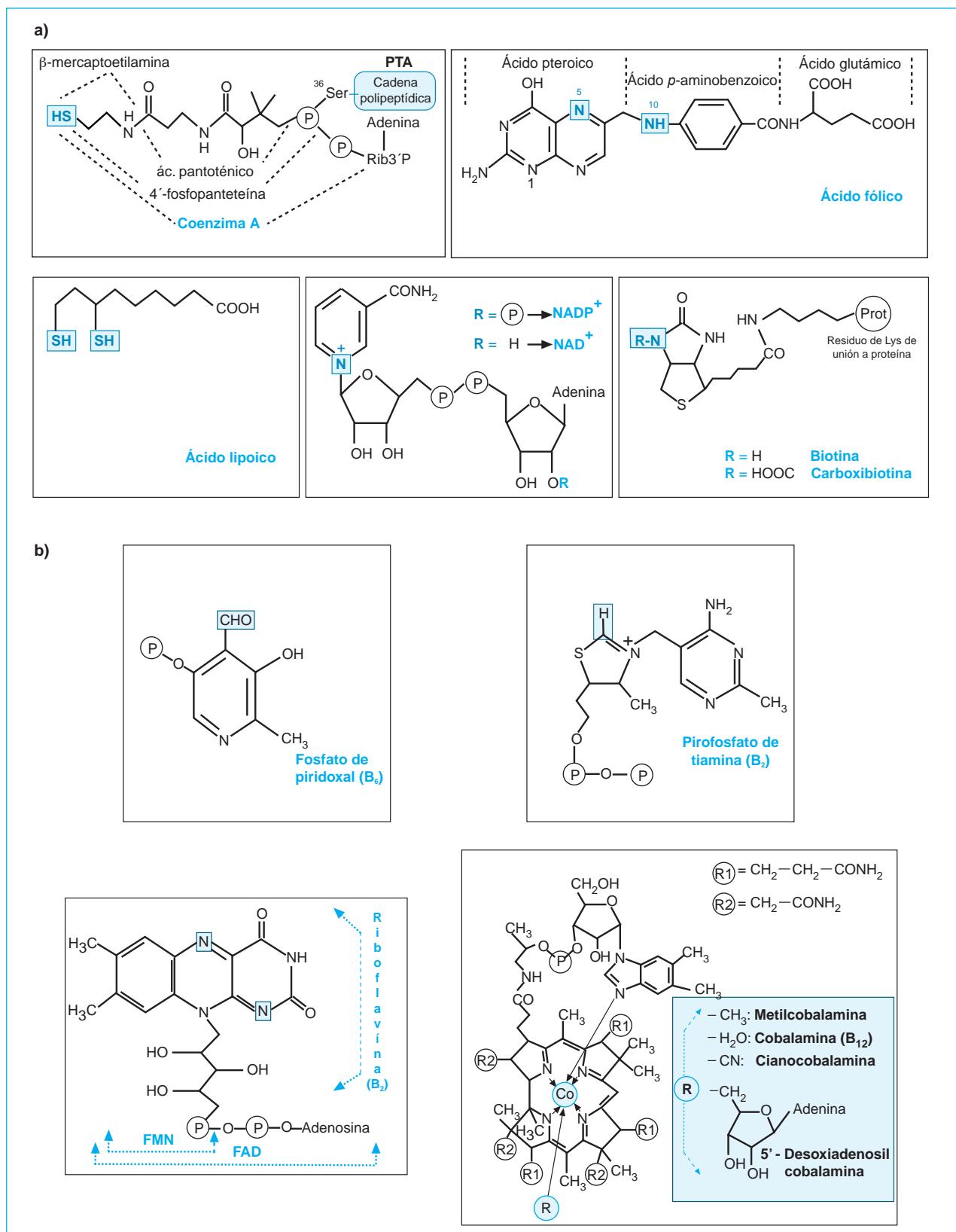
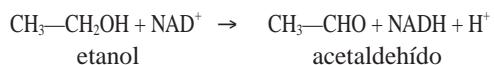


Figura 9-4. a) Estructura de las principales coenzimas. b) Estructura de coenzimas relacionadas con las vitaminas B.

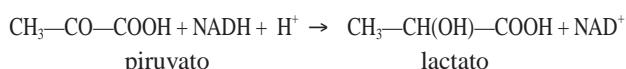
Tabla 9-2. Coenzimas, cofactores y enzimas

<i>Coenzima o cofactor</i>	<i>Enzimas</i>
Nicotinamida-adenina dinucleótido (NAD^+).	<i>Deshidrogenasas</i>
Nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato (NADP^+)	
Flavina-adenina dinucleótido (FAD)	<i>Flavoenzimas</i>
Flavina mononucleótido (FMN)	
Pirofosfato de tiamina (TPP)	<i>α-cetoácido deshidrogenasas</i> <i>Transacetolasas</i>
Fosfato de piridoxal (PAL)	<i>Aminoácido descarboxilasas</i> <i>Aminotranferasas</i>
Tetrahidrofolato (THF)	<i>Timidilato sintetasa</i>
Coenzima A (CoA)	<i>Complejo ácido graso sintetasa</i> <i>Complejo piruvato deshidrogenasa</i>
Biocitina	<i>Piruvato carboxilasa</i>
Coenzima B ₁₂	<i>Mutasas. MetilmalonilCoA mutasa</i>
Fe, Cu, Zn, Mn, Mg, Ca, Ni, Mo, K. etc.	<i>Metaloenzimas.</i> <i>Catalasa, peroxidasas (Fe), citocromooxidasa, tirosinasa (Cu), carboxipeptidasa, anhidrasa carbónica (Zn), xantina oxidasa (Mo), ureasa (Ni), ATPasas (Ca, Mg,K), etcétera.</i>

pa en un centenar de enzimas. Cuando la coenzima se modifica netamente durante el proceso catalítico, se suele denominar *cosustrato*, ya que reacciona con el sustrato principal y se transforma químicamente. Así, en la *alcohol deshidrogenasa*, el NAD⁺ capta átomos de hidrógeno del sustrato etanol y se transforma en NADH:



La regeneración de NAD⁺, para ser utilizado de nuevo en la oxidación de etanol, se puede conseguir cuando la forma NADH es empleada por otra enzima diferente (p. ej., *lactato deshidrogenasa*) para reducir su sustrato correspondiente:



Esta dualidad de formas de una coenzima no es exclusiva de NAD⁺. La mayoría de ellas presenta dos formas, cada una de las cuales es utilizada preferentemente como cosustrato en una determinada reacción enzimática.

Las coenzimas suelen clasificarse atendiendo a la función de las enzimas de las que forman parte y a la reacción que éstas catalizan. Las coenzimas de oxidorreductasas, que transfieren electrones, protones, iones hidruro o átomos de hidrógeno, son NAD⁺, NADP⁺ (nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato), FAD (flavina-adenina dinucleótido) y FMN (flavina mononucleótido). El pirofosfato de tiamina (TPP) trabaja con enzimas que catalizan la ruptura de enlaces carbono-carbono en α -cetoácidos o hidroxicetonas, lo que frecuentemente produce una descarboxilación. La biocitina participa en reacciones de carboxilación, y el tetrahidrofolato, en la transferencia de fragmentos de un átomo de carbono (grupos metilo —CH₃, metileno —CH₂-, metenilo —CH=, formilo —CHO, etc.). La coenzima A es típica de reacciones de transferencia de grupos acilo (de dos átomos de carbono, como el acetilo —CO—CH₃, o de mayor tamaño). El ácido lipoico también realiza transferencias de grupos acilo y electrones. El fosfato de piridoxal es típico de enzimas que participan, entre otros, en el metabolismo de los aminoácidos, transfiriendo grupos nitrogenados (amino) entre aminoácidos y cetoácidos (*aminotransferasas*) o descarboxilando aminoácidos para producir aminas (*aminoácido-aminotransferasas*).

cido descarboxilasa). La coenzima B₁₂, cuya estructura compleja contiene un átomo de cobalto, participa en las reacciones del metabolismo de los aminoácidos que implican el reagrupamiento de grupos químicos.

9.7 VITAMINAS

Las coenzimas se sintetizan por el organismo a partir de moléculas más sencillas, que muy a menudo no pueden ser fabricadas por él, por lo que deben aportarse por los alimentos. Estos factores exógenos, necesarios para la síntesis de coenzimas, son micronutrientes conocidos como *vitaminas*. Aunque no tienen valor energético propio, son indispensables para el desarrollo y buen funcionamiento del organismo.

Las vitaminas se clasifican en dos grandes grupos: *vitaminas liposolubles* (las que se disuelven en disolventes orgánicos apolares), como las vitaminas A, D, E y K, y *vitaminas hidrosolubles*, que se disuelven bien en agua. A diferencia de la mayoría de las vitaminas hidrosolubles, las vitaminas liposolubles no son utilizadas para la síntesis de las coenzimas.

Salvo la vitamina C, las vitaminas hidrosolubles sirven para sintetizar las diferentes coenzimas, por lo que su función está claramente relacionada con la de las enzimas correspondientes. Aunque no existe un límite bien definido, pueden clasificarse en vitaminas liberadoras de energía y vitaminas relacionadas con procesos biosintéticos (también llamadas vitaminas hematopoyéticas). Entre las primeras, se incluyen las precursoras de coenzimas de enzimas clave en el metabolismo energético. La vitamina B₁ o tiamina, conduce a pirofosfato de tiamina (TPP), que forma parte de *piruvato deshidrogenasa* y *α-cetoglutarato deshidrogenasa*. Estas enzimas catalizan importantes reacciones de la glicólisis aerobia y del ciclo de los ácidos tricarboxílicos, respectivamente.

Además, debido a que TPP es necesario para la *transketolasa*, en la ruta de las pentosas fosforiladas, esta vitamina es importante para la producción de ribosa, necesaria para la síntesis de los ácidos nucleicos y de NADPH. La riboflavina, o vitamina B₂, forma parte de las coenzimas de oxidación-reducción FAD y FMN. La niacina, necesaria para la formación de NAD⁺ y NADP⁺, también participa en procesos redox, en especial en la respiración celular. El ácido pantoténico es un componente de la coenzima A, necesaria para el catabolismo de los glúcidios, ácidos grasos y aminoácidos.

La biotina, unida a residuos de lisina de diferentes proteínas, forma la biocitina implicada en reacciones de carbonilación, como la de *piruvato carboxilasa* (que produce ácido oxalacético para la síntesis de glucosa y de intermedios del ciclo de los ácidos tricarboxílicos) o *acetilCoA carboxilasa*, clave para la síntesis de los ácidos grasos.

Las diferentes formas de la vitamina B₆ (piridoxina, piridoxal y piridoxamina) sirven para la síntesis de fosfato de piridoxal, fundamental para el metabolismo de aminoácidos. Por reducción del ácido fólico se obtiene tetrahidrofolato, participante en diferentes reacciones biosintéticas, como las de las bases purínicas y dTMP (monofosfato de desoxitimidina) (necesarios para la síntesis del ADN), aminoácidos (serina, glicina, metionina) y colina. La vitamina B₁₂ o cobalamina participa en enzimas de la síntesis de la metionina y del catabolismo de aminoácidos ramificados. La reducción de estas actividades por déficit de vitamina B₁₂ afecta indirectamente al metabolismo del folato (y, por ello, a la síntesis del ADN) y a la síntesis de los ácidos grasos, con las consecuentes repercusiones hematopoyéticas y neurológicas (síntesis de la mielina).

La vitamina C o ácido ascórbico es un agente reductor en reacciones de hidroxilación. Participa en el mantenimiento del estado reducido de varias vitaminas liposolubles y en la hidroxilación de la prolina y lisina del protocolágeno, por lo que resulta fundamental para el tejido conjuntivo. Esta enumeración no agota la lista de las vitaminas ni la de sus funciones, tal y como se comenta en el Recuadro 9-2.

9.8 REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES DE LAS VITAMINAS

La dieta debe contener vitaminas en la cantidad adecuada. Si alguna escasea, los procesos metabólicos en los que participa no se llevarán a cabo eficientemente, apareciendo problemas de gravedad variable. Las principales fuentes de vitaminas para el hombre son los vegetales (frutas, verduras, cereales, etc.) y sus derivados, aunque algunas carnes y pescados, así como huevos y leche, son ricos en determinados tipos de vitaminas. Por tanto, una alimentación variada y equilibrada aporta las vitaminas necesarias, en cantidad y calidad. Sin embargo, el tratamiento o procesamiento de los alimentos, especialmente los de origen vegetal, puede alterar sustancialmente su contenido vitamínico. Así, la eliminación de la cubierta de determinados frutos o cereales, la cocción de verduras o el troceado excesivo de la fruta, disminuyen su riqueza vitamínica.

Algunos grupos de población necesitan un aporte vitamínico superior a la media. Los niños, que están creciendo, precisan un mayor aporte de nutrientes. Las embarazadas requieren cantidades extra de vitaminas A, C, B₁, B₆ y ácido fólico. Los ancianos que sufren desequilibrios en sus hábitos alimenticios o presentan alteraciones en la absorción gastrointestinal de las vitaminas, también necesitan complementos vitamínicos. Los fumadores precisan un mayor aporte de vitamina C, ya que la consumen más rápidamente. Los

Recuadro 9-2.**LA LISTA CRECIENTE DE LAS VITAMINAS Y SUS ACCIONES**

La historia de la investigación bioquímica en el campo de las vitaminas es larga y fecunda. Podemos situar su origen a principios del siglo XX, cuando la búsqueda de los mecanismos generales que determinaran situaciones patológicas condujo a la *bioquímica nutritiva*. Pronto se demostró la necesidad de un aporte nutritivo mínimo de algunos minerales y de las denominadas primero «aminas vitales», y después, vitaminas. Todo ello desembocó lógicamente en el concepto de enfermedad carencial y, de paso, en una reafirmación de la capacidad de la bioquímica para identificar las bases de determinadas enfermedades, en términos químicos. Pero, a pesar de su antigüedad, esta rama de la bioquímica aún aporta nuevos descubrimientos, al menos en dos aspectos. Por una parte, se han descubierto recientemente nuevas vitaminas que vienen a añadirse a las ya conocidas. Por otra parte, se están poniendo de manifiesto nuevas propiedades biológicas de viejos conocidos de la familia.

Un ejemplo de una posible nueva vitamina es la *pirrolquinolina quinona* (PQQ), descubierta en 2003, que podría sumarse al grupo de la vitamina B. A través de su capacidad de participar en reacciones de transferencia de electro-

nes, la PQQ es un componente esencial de al menos una enzima del metabolismo degradativo de la lisina. La PQQ está presente en algunos alimentos, como las verduras y la carne, y el organismo humano no parece capaz de sintetizarla, por lo que cumple todos los requisitos para ser considerada una vitamina.

En cuanto a nuevas propiedades de vitaminas ya conocidas, la lista es larga y, a veces, sorprendente. Por ejemplo, estudios recientes sugieren que la vitamina C podría tener un efecto beneficioso en la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (ChMT), una enfermedad degenerativa sin tratamiento efectivo, en la que la vaina de mielina de los nervios periféricos aparece dañada, lo que provoca debilidad y atrofia de la musculatura de las extremidades. En un modelo de ratón con la enfermedad ChMT, la administración de dosis elevadas de vitamina C produjo un engrosamiento de las vainas de mielina, una mejoría de los síntomas locomotores y normalizó la supervivencia de los animales. Puesto que la administración de dosis altas de vitamina C carece de efectos secundarios graves, su uso podría recomendarse a pacientes con la enfermedad de ChMT.

En estudios epidemiológicos se ha podido correlacionar el enriquecimiento de la dieta humana en ácido fólico con una disminución del riesgo de infarto de

miocardio y de enfermedad cardiovascular. La base bioquímica de este efecto benéfico inesperado podría relacionarse con una disminución de los niveles séricos de homocisteína, cuya elevación se considera un factor de riesgo de enfermedades cardiovasculares. Las vitaminas también podrían depararnos sorpresas en el campo de la oncología. Por ejemplo, la vitamina D parece proteger frente al cáncer de colon, uno de los más comunes en los países desarrollados. En este caso, el efecto parece relacionarse con la capacidad del receptor de la vitamina D, activado por la vitamina, de regular la expresión de algunos genes, como el de una importante molécula de adhesión, la E-cadherina.

La inducción de E-cadherina por la vitamina D no sólo normaliza las propiedades de adhesión de la célula, sino que parece impedir la expresión de algunos genes implicados en el desarrollo tumoral, al mantener inactivo un factor de transcripción con propiedades oncogénicas, la β -catenina. En este caso, el efecto hipercalcémico de la vitamina D resulta una contraindicación para la administración preventiva de dosis altas de la vitamina. Ello explica el interés por el desarrollo de derivados no hipercalcémicos de la vitamina D que retengan sus propiedades frente al cáncer de colon y, quizás, frente a otros tumores de células epiteliales.

alcohólicos crónicos suelen presentar alteraciones digestivas, que limitan la absorción de las vitaminas, o problemas hepáticos. Ambos trastornos requieren una suplementación vitamínica, en especial, de tiamina, piridoxina y ácido fólico, ya que el hígado es el lugar más importante de activación y almacenamiento de las vitaminas. En regímenes dietéticos, debe tenerse en cuenta que la eliminación de ciertos alimentos de la dieta puede trastornar el equilibrio de las vitaminas que el organismo necesita. Se puede asumir, además, que una dieta inferior a 1500 kcal/día no cubre los requerimientos vitamínicos mínimos.

La carencia grave de una vitamina o grupo de vitaminas da lugar a las *avitaminosis*, mientras que las situaciones de aporte de vitaminas inferior al requerido se conoce como

hipovitaminosis. Ambos estados están asociados a una serie de síntomas más o menos graves, dependiendo de su grado y de la o las vitaminas en cuestión. No suelen darse en personas que siguen una dieta equilibrada y son más frecuentes en países subdesarrollados, como consecuencia de desnutrición o una alimentación incompleta. Por el contrario, las *hipervitaminosis* o acumulación excesiva de una determinada vitamina son muy raras, y sólo se producen en el caso de las vitaminas liposolubles, ya que las hidrosolubles se excretan fácilmente, sin acumularse en ningún tejido.

Debido a que las vitaminas hidrosolubles se incorporan a coenzimas que participan en rutas catabólicas generadoras de energía o en procesos biosintéticos, su deficiencia afecta fundamentalmente a los tejidos de crecimiento rápido (mucosas,

hematopoyético, etc.) o con un consumo continuado de energía, como el sistema nervioso. La carencia grave de tiamina se conoce como beriberi y provoca alteraciones neuromusculares y oculares. El déficit de niacina se denomina pelagra y cursa con dermatitis, diarrea e, incluso, demencia. La falta de ácido ascórbico conduce al escorbuto. La deficiencia en ácido fólico retarda la maduración de los eritrocitos. Esto puede provocar una anemia macrocítica o megaloblástica, con presencia de eritrocitos grandes y frágiles. La anemia perniciosa asociada a alteraciones neurológicas se produce por deficiencia en vitamina B₁₂. Puesto que la absorción de la vitamina B₁₂ requiere una proteína secretada por el estómago, el factor intrínseco, la alteración de la secreción gástrica de dicha proteína produce la sintomatología de la anemia perniciosa, aunque exista un aporte oral adecuado de vitamina B₁₂.

Algunos casos de hipovitaminosis se producen pese a un aporte normal de vitaminas, por ingestión de compuestos que inactivan o alteran la asimilación de vitaminas concretas. Por ejemplo, la biotina se combina con una proteína presente en los huevos crudos, la avidina, dando un complejo que no se puede absorber por el intestino. Algunos fármacos pueden afectar tanto a la absorción como a la biotransformación de determinadas vitaminas. Las personas en tratamiento con estos fármacos están también expuestas a alteraciones del equilibrio vitamínico. Por ejemplo, algunos anticonvulsionantes inhiben la conversión de la vitamina D en su derivado activo y, también aumentan las exigencias de ácido fólico y vitamina B₆; ciertos medicamentos para diabéticos afectan a las necesidades de vitamina B₆; los antibióticos, a las vitaminas del tipo B y K, etcétera. En todas estas situaciones se recomienda un aporte vitamínico adicional. Cabe resaltar que mientras que los complementos vitamínicos pueden evitar determinadas alteraciones, la utilización de coenzimas como tales en la dieta carece de significado terapéutico, pues la mayoría de ellas no pueden ser captadas por las células.

9.9 CINÉTICA ENZIMÁTICA

9.9.1 Medidas de actividad enzimática, expresiones y unidades

Puesto que la principal función de las enzimas es regular la velocidad a la que se desarrollan las reacciones biológicas, la *cinética enzimática*, que estudia la velocidad de los procesos catalizados enzimáticamente, es una parte esencial de la enzimología. Los principios generales de la cinética química son aplicables a las reacciones enzimáticas, aunque la naturaleza proteica de las enzimas introduce matices adicionales. Además, la velocidad de las reacciones enzimáticas puede modularse por variaciones en la concentración de ligandos específicos que se unen en o fuera del centro activo, incre-

mentándola (ligandos activadores) o disminuyéndola (inhibidores). A continuación, definiremos las expresiones y unidades de la actividad enzimática y estudiaremos el efecto de la concentración de enzima y de sustrato, así como de algunas variables fisicoquímicas del medio. Además, se discutirán los principales tipos de inhibición, y algunos mecanismos generales de regulación.

Supongamos el caso sencillo de una reacción enzimática que transforma el sustrato S en el producto P:



La velocidad de reacción se define como la variación en el tiempo de la concentración de S, o, lo que es lo mismo, de P:

$$V = -d[S]/dt = d[P]/dt$$

Esta velocidad puede cuantificarse mediante un *ensayo de actividad enzimática*, en el que se mide a varios tiempos, o mejor, de forma continua, las concentraciones de S o de P. Estos ensayos se realizan con pequeñas cantidades catalíticas de enzima, del orden de 10⁻¹² a 10⁻⁸ M, mucho menores que las de sustrato. Además, se suelen determinar velocidades iniciales, medidas al comienzo de la reacción. En estas condiciones, la concentración de sustrato varía poco durante el ensayo y se considera constante.

La *actividad catalítica* de una preparación enzimática se expresa mediante unidades estandarizadas por la Comisión de Enzimas. La *unidad de actividad enzimática* (U) es la cantidad de enzima que cataliza la formación de un mmol de producto por minuto, en condiciones estándar y, a ser posible, óptimas. Se emplea, si es factible, una concentración de sustrato saturante y una temperatura de 37 °C. La concentración de enzima se expresa en unidades enzimáticas por unidad de volumen, por ejemplo en U/mL. La Comisión de Nomenclatura Bioquímica recomienda, además, el uso del *katal*, o cantidad de enzima que cataliza la conversión de un mol de sustrato por segundo, pero, en la práctica, el katal se emplea raramente. La pureza de una preparación enzimática se cuantifica mediante su *actividad específica*, expresada en U/mg de proteína. Este parámetro es una medida de la proporción de proteína enzimática con respecto a la proteína total de la preparación, y aumenta hasta un valor límite, típico de cada enzima pura, cuando la enzima se purifica por cualquier técnica adecuada.

9.9.2 Efecto de la concentración de sustrato sobre la velocidad de reacción

Para que una enzima pueda catalizar la transformación de S en P, el sustrato debe unirse al centro activo. El complejo

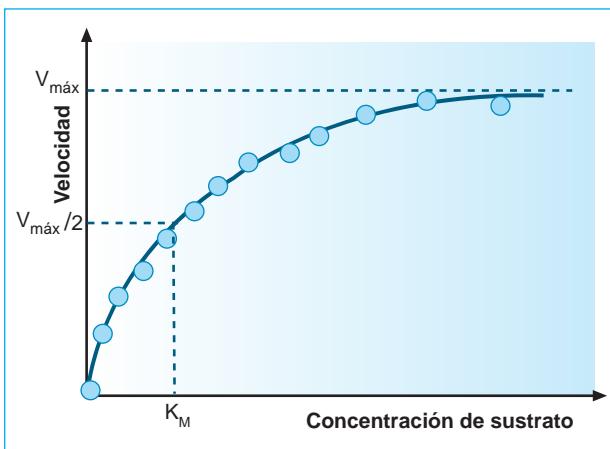


Figura 9-5. Efecto de la concentración del sustrato sobre la velocidad de una reacción enzimática. Para las enzimas michaelianas, la representación de la velocidad de reacción frente a la concentración del sustrato tiende asintóticamente a un valor de velocidad máxima y se ajusta a una hipérbola rectangular.

enzima-sustrato evolucionará a producto y enzima libre, tanto más rápidamente cuanto mayor sea la capacidad catalítica de la enzima. La concentración de complejos enzima-sustrato depende de las concentraciones de E y S. Por tanto, la velocidad de una reacción enzimática debe depender de [E] y [S] por una parte, y de la eficiencia catalítica de la enzima, por otra.

Muy a menudo la velocidad de reacción varía de forma hiperbólica en función de la concentración del sustrato (Fig. 9-5). A concentraciones de sustrato bajas, la velocidad aumenta con la concentración de éste. Se dice que la reacción es de *primer orden*. A medida que la concentración de sustrato crece, esta dependencia disminuye, hasta que, a concentraciones elevadas, la velocidad de reacción es prácticamente constante (reacción de *orden cero*), tendiendo asintóticamente a un valor de *velocidad máxima* ($V_{\text{máx}}$). Este comportamiento se explicó matemáticamente por primera vez en 1913, por L. Michaelis y M. Menten, por lo que las enzimas con una dependencia hiperbólica de la velocidad de reacción respecto a la concentración de sustrato se denominan enzimas *michaelianas*. Sin embargo, el modelo de Michaelis y Menten recurre a premisas que no se cumplen en todos los casos, de manera que las curvas de saturación hiperbólicas se explican mejor por un modelo más general, el *modelo del estado estacionario*.

Según esta teoría, la concentración del complejo ES crece inicialmente tras mezclar enzima y sustrato (Fig. 9-6). A medida que ES se acumula en el medio, crece también la velocidad de formación de producto. Rápidamente se alcan-

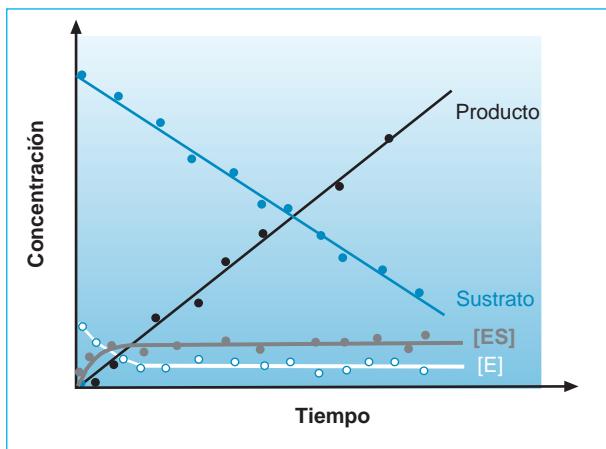
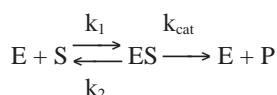


Figura 9-6. Evolución de la concentración de las especies implicadas en una reacción enzimática, de acuerdo con la teoría del estado estacionario. Una de las características de esta teoría es el postulado de la estabilidad de la concentración del complejo enzima-sustrato, que crece rápidamente al inicio de la reacción, para mantenerse constante a lo largo de la misma.

za un estado estacionario, donde la concentración de ES permanece constante porque su velocidad de formación es igual a la suma de la velocidad de las reacciones que lo descomponen.

El modelo considera, además, velocidades iniciales. Al iniciarse la reacción, las concentraciones de P son tan bajas que la reacción inversa de combinación de P y la enzima para evolucionar hasta S, es despreciable. Por tanto, la transformación de ES en E + P puede considerarse irreversible, y el sistema se describe por tres reacciones, caracterizada cada una por una constante de velocidad:



Como en toda reacción química, la velocidad será proporcional a la concentración de la especie precursora del producto, en este caso, ES:

$$V = d[\text{P}]/dt = k_{\text{cat}} [\text{ES}] \quad [1]$$

En el estado estacionario se debe cumplir:

$$d[\text{ES}]/dt = 0 \quad [2]$$

En estas condiciones, la velocidad de formación del complejo ha de ser igual a la suma de las velocidades de las dos

reacciones que lo descomponen: disociación para liberar sustrato, y transformación del sustrato en producto:

$$k_1[E][S] = k_2[ES] + k_{\text{cat}}[ES] \quad [3]$$

La enzima puede encontrarse en forma libre o unida al sustrato, y:

$$[E]_T = [E] + [ES] \quad [4]$$

siendo $[E]_T$ la concentración total de enzima y $[E]$ la de enzima libre. Reordenando la ecuación (4) puede expresarse la concentración de enzima libre en función de la de enzima total y la del complejo enzima-sustrato:

$$[E] = [E]_T - [ES] \quad [5],$$

y reemplazando $[E]$ en la ecuación [3]

$$k_1([E]_T - [ES])[S] = k_2[ES] + k_{\text{cat}}[ES] \quad [6]$$

y despejando $[ES]$:

$$[ES] = \frac{[E]_T[S]}{\frac{k_2 + k_{\text{cat}}}{k_1} + [S]} \quad [7]$$

Al ser una combinación de constantes, el término $k_2 + k_{\text{cat}} / k_1$ es también una constante que podemos denominar K_M , o *constante de Michaelis*. Por ello, y reemplazando el valor de $[ES]$ en la ecuación [1], de acuerdo con su expresión obtenida en la ecuación [7], se obtiene:

$$V = k_{\text{cat}}[ES] = \frac{k_{\text{cat}}[E]_T[S]}{K_M + [S]} \quad [8]$$

De acuerdo con la ecuación (1), la velocidad máxima se alcanzará en condiciones en que $[ES]$ sea lo mayor posible, es decir cuando $[ES] = [E]_T$:

$$V_{\text{máx}} = k_{\text{cat}}[E]_T \quad [9]$$

Por ello, la ecuación [8] también puede expresarse por:

$$V = \frac{V_{\text{máx}}[S]}{K_M + [S]} \quad [10]$$

Esta ecuación corresponde a una hipérbola rectangular y da cuenta de la relación entre concentración de sustrato y velocidad de reacción. Si $[S]$ es grande y el valor de K_M es des-

preciable frente a S , la ecuación [10] tiende a $V = V_{\text{máx}}$, lo que explica el acercamiento asintótico a un valor máximo de velocidad, a concentraciones de sustrato elevadas. Nótese que K_M tiene unidades de concentración. Además, cuando $V = V_{\text{máx}}/2$, la ecuación [10] se simplifica a $[S] = K_M$. Por tanto, la constante de Michaelis coincide con la concentración de sustrato para la que se alcanza la mitad de la velocidad máxima. De acuerdo con la ecuación [8], ello equivale a una concentración de ES igual a un medio de la concentración de enzima total. Así, a menor valor de K_M , la enzima se satura de sustrato a menores concentraciones de éste. La afinidad de una enzima por un sustrato determinado será tanto mayor cuanto menor sea la constante de Michaelis correspondiente.

Debido a la forma hiperbólica de las curvas de saturación michaelianas, pequeños cambios en la concentración de sustrato alrededor del valor de K_M , producen variaciones porcentuales considerables de la velocidad de reacción. Esta propiedad tiene interés regulador, ya que el valor de K_M de muchas enzimas para sus sustratos naturales, se encuentra frecuentemente en el rango de concentración fisiológica de éstos. Así, la velocidad de muchas reacciones y vías metabólicas responde a pequeños cambios en la concentración de algunos de los sustratos implicados.

9.9.3 Efecto de la concentración de enzima sobre la velocidad de reacción. El número de recambio

Según la ecuación [8], la velocidad de reacción es directamente proporcional a la concentración del complejo ES. A concentración de sustrato saturante, ésta varía proporcionalmente con la concentración de la enzima, por lo que las reacciones enzimáticas son de primer orden respecto a la enzima. Cuando la reacción transcurre en condiciones de velocidad máxima, la constante de proporcionalidad que relaciona velocidad y concentración de ES, k_{cat} , se denomina *número de recambio*, y representa el número de moles de sustrato transformadas por unidad de tiempo y mol de enzima. Su inversa, expresada en unidades de tiempo, corresponde al tiempo requerido por la enzima para transformar una molécula de sustrato en el producto correspondiente.

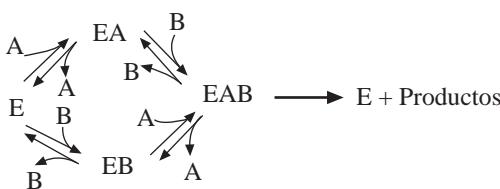
9.10 CINÉTICA DE LAS REACCIONES BISUTRATO

Hasta ahora hemos tratado el caso de la transformación de un sustrato en un único producto. Sin embargo, las reacciones enzimáticas que implican a más de un sustrato, transformándolos en varios productos, son frecuentes. En las reacciones bisustrato, del tipo:

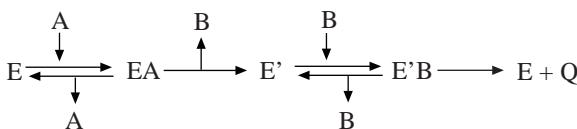


pueden considerarse dos tipos de mecanismos de reacción. En los *mecanismos secuenciales*, los dos sustratos se unen al centro activo antes de que se libere ningún producto. Muy a menudo, es indiferente qué sustrato se une primero (reacciones secuenciales al azar), aunque también se dan casos en que la formación del complejo ternario EAB debe producirse en un orden determinado para ser catalíticamente productiva (reacciones secuenciales ordenadas).

Las especies implicadas en este tipo de reacciones se esquematizan mediante las *representaciones de King y Altman*:



Otras reacciones bisustrato siguen *mecanismos «ping-pong»* o de *doble desplazamiento*. Tras la unión del primer sustrato se libera uno de los productos, en una reacción parcial que genera una forma modificada de la enzima. Esta forma une al siguiente sustrato, cataliza la formación del segundo producto y regenera la enzima nativa. Este tipo de mecanismo, muy común en las reacciones de transferencia de un grupo químico del sustrato A al B, puede esquematizarse por:



Generalmente, la velocidad de una reacción bisustrato tiene un comportamiento cinético análogo a las reacciones monosustrato, cuando se varía la concentración de uno de los sustratos, manteniendo fija la del otro. Es posible, por tanto, calcular valores de K_M y $V_{\text{máx}}$ para cada sustrato, manteniendo la concentración del otro constante y saturante. Sin embargo, resulta relativamente frecuente encontrar complicaciones adicionales, como la disminución de la velocidad, cuando la concentración de uno de los sustratos se eleva demasiado (inhibición por exceso de sustrato).

9.11 INTERÉS DE LAS DETERMINACIONES DE K_M . LINEARIZACIÓN DE LA ECUACIÓN DE MICHAELIS-MENTEN

La determinación experimental de K_M es útil desde varios puntos de vista. En primer lugar, da una idea de la afinidad de

la enzima por el sustrato, por lo que permite comparar la afinidad relativa de una misma enzima por distintos sustratos fisiológicos o sintéticos. El mismo tipo de comparación puede establecerse cuando lo que se considera son isoenzimas, es decir, proteínas distintas que catalizan una misma reacción. Además, muchos efectores capaces de modificar la actividad catalítica de las enzimas actúan alterando la afinidad de la proteína por sus sustratos. Estos efectores producen cambios en el valor de K_M . Por último, ya hemos comentado la coincidencia frecuente del valor de K_M para muchos sustratos enzimáticos con su concentración fisiológica, y el posible significado regulador de este hecho.

Puesto que la extrapolación de los valores de K_M y $V_{\text{máx}}$, a partir de una curva hiperbólica, como la de la Figura 9-5 es poco exacta, se han desarrollado métodos gráficos para la determinación de estos parámetros, basados en modificaciones de las ecuaciones anteriores que den lugar a una representación lineal. En la representación de Lineweaver-Burk, o de los dobles inversos, se consideran los inversos de los dos términos de la ecuación [10], que han de ser forzosamente iguales:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_M + [S]}{V_{\text{máx}}[S]} \quad [11]$$

Esta ecuación se reordena para despejar la inversa de la concentración de sustrato:

$$\frac{1}{V} = \frac{1}{[S]} \cdot \frac{K_M}{V_{\text{máx}}} + \frac{1}{V_{\text{máx}}} \quad [12]$$

Una representación de la inversa de la velocidad, frente a la inversa de la concentración de sustrato debe ajustarse a una línea recta de pendiente $K_M/V_{\text{máx}}$, que corta el eje de abscisas en $-1/K_M$ y el de ordenadas, en $1/V_{\text{máx}}$ (Fig. 9-7).

Existen otros métodos de linearización igualmente útiles. En el de Eadie-Hofstee, se representa $V/[S]$ frente a V , obteniéndose una recta de pendiente $-1/K_M$, que corta los ejes de abscisas y ordenadas en $V_{\text{máx}}$ y $V_{\text{máx}}/K_M$, respectivamente (Fig. 9-7).

9.12 EFECTO DEL pH Y LA TEMPERATURA SOBRE LA VELOCIDAD DE LAS REACCIONES ENZIMÁTICAS

El cambio en el estado de ionización de los grupos químicos localizados en el centro activo, puede alterar el reconocimiento del sustrato o la reactividad de los aminoácidos implicados en la catálisis. Normalmente, la actividad de una enzima es máxima alrededor de un valor de pH determinado, el *pH óptimo*, en el cual la conformación de la proteína y

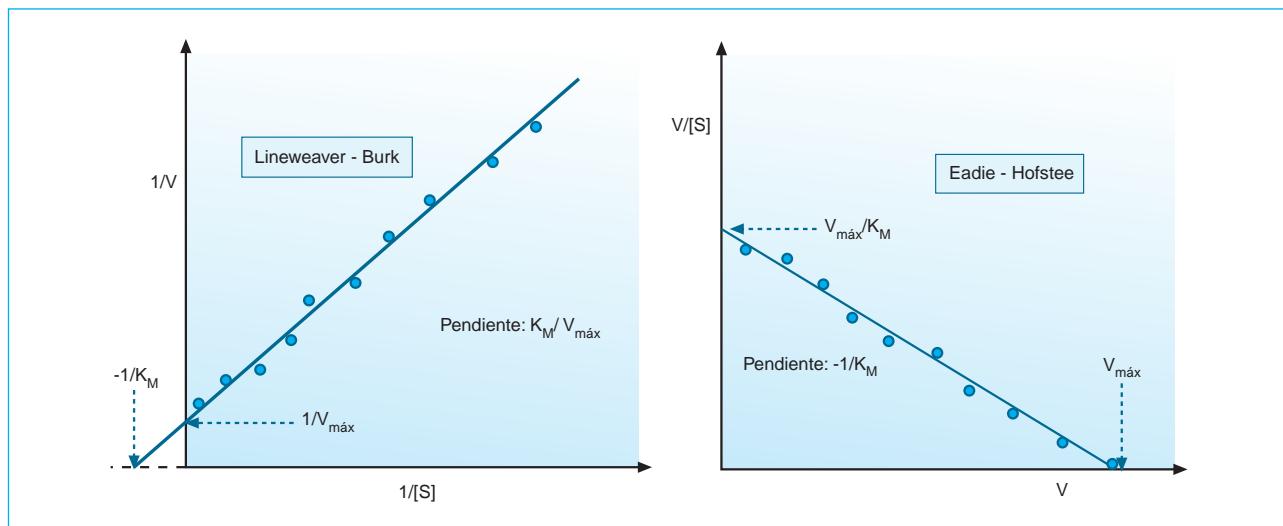


Figura 9-7. Representaciones de Lineweaver-Burk y Eadie-Hofstee para el cálculo de parámetros cinéticos. Estas representaciones linearizadas de la ecuación de Michaelis-Menten son muy útiles para la determinación experimental de las constantes K_M y $V_{\text{máx}}$ y para el análisis cinético de los inhibidores de las enzimas.

el estado de ionización de los residuos de aminoácidos del centro activo son idóneos para el reconocimiento y la transformación del sustrato. Por encima y por debajo de este valor, la actividad decae, de manera que las representaciones de actividad frente a pH suelen ser acampanadas. Sin embargo, la forma y la anchura de la curva, y el valor del pH óptimo, son muy variables, dándose incluso casos, como el de la *papaína*, en los que la dependencia de la actividad frente al pH es prácticamente nula. Además, si bien los cambios de actividad observados para valores cercanos al pH óptimo suelen ser reversibles, los valores extremos de pH, tanto ácidos como básicos, pueden conducir a una desnaturalización irreversible de la proteína enzimática.

A menudo, el pH óptimo de una enzima refleja el pH del entorno en el que ejerce su acción fisiológica. Por ejemplo, *pepsina* y *tripsina* son proteasas que participan en la digestión de las proteínas de la dieta. La *pepsina* es secretada al estómago, cuyo pH es fuertemente ácido debido a la secreción de ácido clorhídrico por las células oxínticas de la pared estomacal. La *tripsina*, secretada por el páncreas, actúa en el intestino delgado, cuyo pH es ligeramente básico. Las curvas de actividad frente a pH de ambas enzimas reflejan su adaptación a estas circunstancias, con un pH óptimo cercano a 8 para la *tripsina* y a 2 para la *pepsina*.

El efecto de la temperatura sobre la velocidad de las reacciones enzimáticas es también complejo, ya que concurren al menos dos factores. Por una parte, como en cualquier reacción química, un incremento de la temperatura provoca un aumento de la velocidad de reacción, debido al incremento en el

movimiento browniano y a que la energía de las moléculas de los reactivos es mayor. Ello hace que el número de encuentros entre los reactivos aumente y que la proporción de moléculas capaces de salvar la barrera energética del estado de transición sea, también, mayor. Por otra parte, un aumento en la temperatura del medio también acelera la desnaturalización de la proteína. La mayoría de las enzimas (salvo las de los organismos termófilos) se desnaturalizan casi instantáneamente a temperaturas del orden de, o superiores a, 80 °C. Por tanto, las curvas de actividad frente a la temperatura tienen un tratamiento complejo, siendo más difícil definir una temperatura óptima que un pH óptimo. Cuando se estudia la acumulación de producto en una reacción enzimática típica, realizada a distintas temperaturas, se obtienen curvas lineales a temperaturas moderadas, en las que la velocidad de desnaturalización de la enzima es baja (Fig. 9-8). A temperaturas altas, la velocidad inicial de aparición del producto es más elevada. Sin embargo, la enzima se desnaturaliza en el medio y a medida que la reacción transcurre, existen cada vez menos moléculas de enzima activa. Por ello, la velocidad de formación del producto decae rápidamente. En el ejemplo de la Figura 9-8, la temperatura óptima para la reacción no sería la misma considerada a un tiempo corto, T_1 , en el que la desnaturalización de la enzima aún no es importante, incluso a temperaturas elevadas, que a un tiempo más largo, T_2 , en el que a temperaturas altas quedan pocas moléculas de proteína enzimáticamente activas. Las medidas estándar de actividad enzimática se suelen efectuar a temperatura fisiológica de 37 °C, aunque ésta no sea la temperatura óptima en sentido estricto.

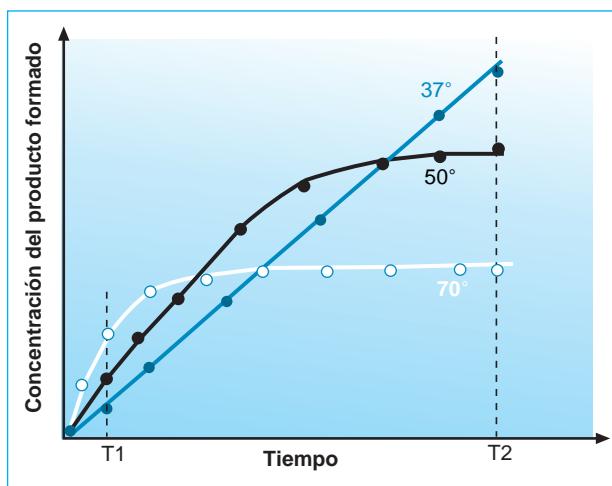


Figura 9-8. Curvas de progreso de la reacción, a distintas temperaturas, para una reacción enzimática típica. Cuando la temperatura de la reacción es elevada, la desnaturización térmica de la enzima es rápida y se manifiesta por una disminución de la cantidad del producto formado por unidad de tiempo.

9.13 INHIBICIÓN ENZIMÁTICA

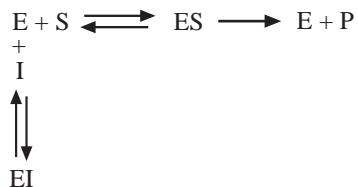
Se denominan *activadores* e *inhibidores* aquellas moléculas capaces de unirse a una enzima, y aumentar o disminuir su actividad, respectivamente. El estudio de estas moléculas tiene un gran interés básico y aplicado. En todos los organismos, la activación o inhibición de algunas enzimas clave en las distintas rutas metabólicas contribuye, decisivamente, a la regulación del flujo a través de dichas rutas. Además, la actividad de numerosos fármacos se basa en su capacidad de inhibir algunas enzimas.

Atendiendo al modo de unión a la enzima, los inhibidores se clasifican en dos grupos: los *irreversibles*, que se unen a la enzima por enlaces covalentes y la inactivan permanentemente, y los *reversibles*, que lo hacen mediante enlaces no covalentes y en condiciones adecuadas pueden ser desplazados de la proteína, que recupera sus características cinéticas nativas. Los inhibidores fisiológicos que contribuyen *in vivo* a la regulación del metabolismo son de este último tipo.

9.13.1 Inhibidores reversibles

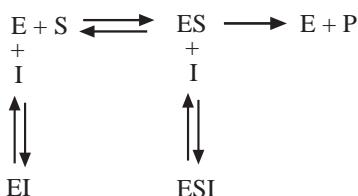
Existen varios tipos de inhibidores reversibles, distinguibles mediante criterios cinéticos. Los *inhibidores competitivos* poseen una estructura semejante al sustrato, y son reconocidos por el centro activo de la enzima. En presencia de un inhibidor competitivo, una cierta proporción de moléculas

de enzima tiene el centro activo ocupado por moléculas de inhibidor, que impiden la unión del sustrato:



La velocidad de reacción para una concentración determinada de sustrato y enzima es, entonces, tanto menor cuanto mayor sea la concentración del inhibidor. Sin embargo, a concentración de inhibidor fija, el grado de inhibición disminuye a medida que aumenta la concentración del sustrato. En efecto, si el número de moléculas de sustrato es alto, en comparación con el de inhibidor, la probabilidad de que el centro activo de la enzima esté ocupado por el inhibidor es baja. Si la concentración de sustrato aumenta lo suficiente, acaba por obtenerse la misma velocidad máxima que en ausencia de inhibidor. En consecuencia, los inhibidores competitivos aumentan la K_m de la enzima por su sustrato, sin modificar la V_{\max} de la reacción. Gráficamente, este comportamiento se manifiesta por representaciones de Lineweaver-Burk que convergen en el eje de ordenadas, pero con distintos puntos de corte con el eje de abscisas (Fig. 9-9).

Los *inhibidores no competitivos* se unen a sitios de unión específicos en la molécula de la enzima, distintos del centro activo. Por tanto, su efecto no puede revertirse aumentando la concentración de sustrato. Además, el inhibidor presenta afinidad tanto por la enzima libre, como por el complejo enzima-sustrato. Las especies presentes en el medio de reacción están relacionadas por las siguientes ecuaciones:



Tras la unión del inhibidor, la actividad catalítica de la enzima se anula, sin que varíe su capacidad de unir sustrato. El sistema se comporta como si la concentración de la enzima hubiera disminuido, ya que la fracción de enzima unida al inhibidor no manifiesta su actividad catalítica. Recuérdese que la velocidad máxima es función de la concentración total

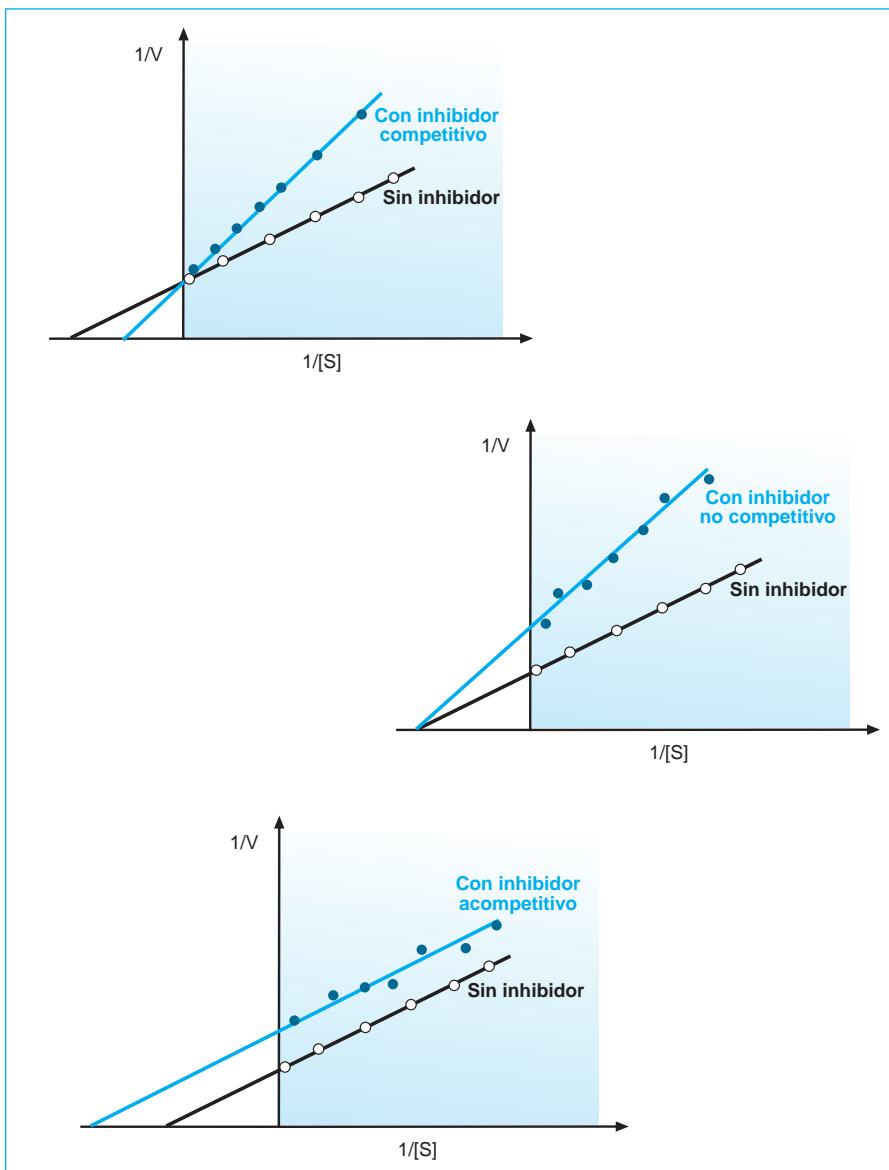
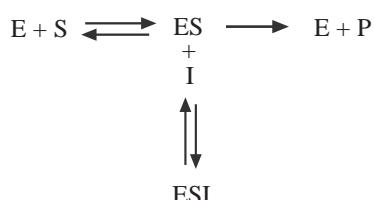


Figura 9-9. Representaciones de Lineweaver-Burk para una reacción enzimática, en presencia de distintos tipos de inhibidores reversibles. Las representaciones de Lineweaver-Burk obtenidas en presencia y ausencia de un inhibidor permiten deducir el tipo de inhibición a partir del patrón de corte de las rectas con los ejes. Para inhibidores competitivos, las rectas convergen en el eje de ordenadas. Para inhibidores no competitivos, las rectas interseccinan en el eje de abscisas, y para inhibidores acompetitivos, son paralelas.

de enzima, mientras que el valor de K_M es independiente de este parámetro. Por tanto, la presencia de un inhibidor no competitivo provoca una disminución de la velocidad máxima, sin alteración de la K_M . Así, en la representación de Lineweaver-Burk, en presencia y ausencia de un inhibidor no competitivo, se obtienen rectas que convergen en el eje de abscisas, pero con puntos de corte distintos en el eje de ordenadas (Fig. 9-9).

Un tercer tipo de inhibidores reversibles, los *inhibidores acompetitivos*, se unen al complejo enzima-sustrato, formando un complejo ternario enzima-sustrato-inhibidor, catalíticamente inactivo, pero carecen de afinidad por la enzima libre. El sistema se describe mediante las siguientes ecuaciones:



La presencia del inhibidor reduce la concentración del complejo ES y, por tanto, la velocidad máxima. Además, la formación del complejo ESI desplaza el equilibrio de asociación-disociación de enzima y sustrato, en el sentido de la asociación, con lo que la afinidad de la enzima por su sustrato aparece aumentada. En presencia de un inhibidor acom-

tivo, el valor de K_M determinado experimentalmente es menor que en su ausencia. El resultado combinado de la disminución de la velocidad máxima y la K_M es que las representaciones de Lineweaver-Burk obtenidas en presencia y ausencia de inhibidor rinden rectas paralelas (Fig. 9-9).

9.13.2 Inhibidores irreversibles

Los inhibidores de este tipo son comunes en Farmacología, y resultan útiles en el tratamiento de patologías muy diversas. Por ejemplo, la penicilina basa su efecto antibiótico en su capacidad de inhibir irreversiblemente una enzima clave para la síntesis de la pared celular de muchas bacterias (Recuadro 9-3). Además de su utilidad terapéutica, los inhibidores irreversibles se emplean a menudo en investigación, por ejemplo, para localizar el centro activo de las enzimas, que queda marcado covalentemente por el inhibidor.

El mecanismo de acción de este tipo de inhibidores es especialmente claro en el caso de enzimas, como *acetilcolinesterasa*, en cuyo ciclo catalítico interviene un intermedio covalente inestable entre el sustrato y algún aminoácido del centro activo (Fig. 9-3). Este intermedio evoluciona rápidamente para restituir la forma nativa de la enzima y liberar un producto de la reacción. En el caso de los inhibidores irreversibles, este tipo de intermedio es estable, y la presencia de un grupo químico unido a un residuo catalítico del centro

activo, lo bloquea de forma definitiva. La *acetilcolinesterasa* puede inhibirse irreversiblemente mediante compuestos organofosforados, usados como insecticidas o como armas químicas. La estructura de un insecticida organofosforado típico, el paratón, se muestra en la Figura 9-10. El residuo de

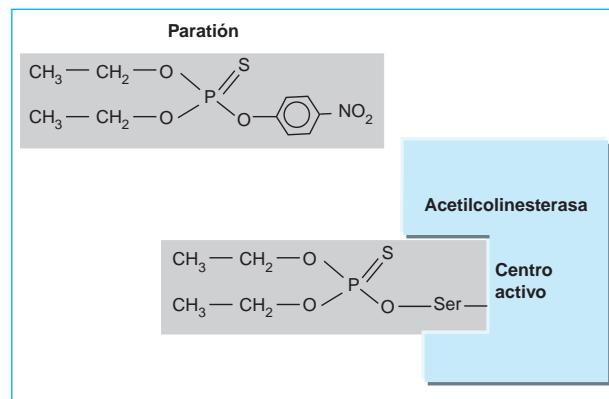


Figura 9-10. Estructura del paratón, un insecticida organofosforado típico, y del intermedio covalente estable formado en el centro activo de acetilcolinesterasa. A diferencia del sustrato fisiológico, la acetilcolina, algunos compuestos orgánicos forman intermedios covalentes estables con el residuo de serina implicado en el ciclo catalítico de la acetilcolinesterasa. El centro activo de la enzima queda bloqueado y la enzima resulta inhibida irreversiblemente.

Recuadro 9-3.

LA PENICILINA Y LA INHIBICIÓN IRREVERSIBLE DE LA SÍNTESIS DE LA PARED BACTERIANA

Desde su descubrimiento en 1928 por A. Fleming, la penicilina y sus derivados sintéticos y semisintéticos revolucionaron el tratamiento de muchos procesos infecciosos. Como en otros muchos casos, los avances en su investigación fueron muy lentos tras el descubrimiento inicial de su producción por algunos hongos del género *Penicillium*, y sólo recibieron un impulso definitivo a partir de 1939 como consecuencia de las necesidades derivadas del gran número de heridos en la Segunda Guerra Mundial. En 1941 ya se conseguía penicilina para ensayos clínicos limitados, pero en cantidades tan pequeñas que el antibiótico se recuperaba y reciclabla de la orina de los

pacientes. En 1943 se producían cantidades suficientes para surtir a las fuerzas aliadas, y en 1944 su uso se extendió a la población civil.

Las penicilinas actúan como inhibidores irreversibles de una enzima esencial para la síntesis de la pared de muchas bacterias. Esta enzima es una *transpeptidasa* que entrecruza polímeros de peptidoglicano, formando un entramado mucho mayor, denominado mureína, que confiere a la bacteria una gran resistencia mecánica y a los cambios de presión osmótica. El entrecruzamiento catalizado por *transpeptidasa* se produce por formación de un enlace amida entre el grupo amino de un residuo de glicina, y el carboxilo de una unidad de D-Ala-D-Ala. Durante la reacción, un residuo de serina de la enzima ataca a la unidad D-Ala-D-Ala, y forma un intermedio acilado D-Alanil-enzima, con liberación de

D-Ala. La conformación de la penicilina es muy similar a la del dipéptido D-Ala-D-Ala. Por ello, el antibiótico es reconocido por la enzima, pero, en vez de un intermedio acil-enzima muy inestable, se forma un complejo *peniciloil-transpeptidasa*, extremadamente estable, que inactiva irreversiblemente a la enzima. El mecanismo de acción de la penicilina recuerda, por tanto, al de los insecticidas inhibidores de la *acetilcolinesterasa*.

Al bloquear la síntesis de la pared celular, la penicilina y sus derivados confieren labilidad al microorganismo. Curiosamente, la bacteria no muere por ello y si se mantiene en un medio isotónico y en ausencia de choques mecánicos, las bacterias sobreviven e, incluso, son capaces de proliferar. Sin embargo, dentro del organismo huésped, las bacterias desprovistas de su pared son rápidamente destruidas.

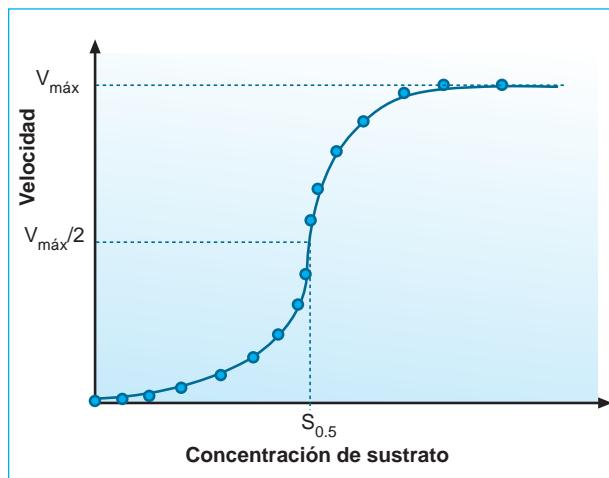


Figura 9-11. Curva de saturación sigmoidal característica de las enzimas alostéricas. El grado de saturación de la proteína o enzima puede tratarse mediante la ecuación de Hill, y no es estrictamente correcto hablar de K_m sino, más bien, de concentración de sustrato al 50% de saturación ($S_{0.5}$) o, si acaso, de K_m aparente.

serina que participa en la hidrólisis de la acetilcolina reacciona con el paratión formando un aducto fosforilado extremadamente resistente a la hidrólisis.

9.14 ALOSTERISMO

Muchas enzimas presentan curvas de saturación sigmoides, en lugar de las hipérbolas típicas de la cinética michaeliana. Este comportamiento se observa también en transportadores,

como la hemoglobina, y se denomina *alostérico*. En estos casos, la velocidad de la reacción aumenta lentamente con la concentración de sustrato, cuando ésta es baja. Sin embargo la pendiente de la curva cambia rápidamente, a concentraciones de sustrato más elevadas (Fig. 9-11).

Como la velocidad de la reacción es una medida del grado de saturación de la enzima, el incremento en la pendiente de la curva de velocidad indica *cooperatividad* en la unión del sustrato al centro activo: la unión de una molécula de sustrato facilita la de las siguientes.

El alosterismo se explica por modelos que suponen que la proteína enzimática es un oligómero compuesto por varias subunidades, en el que la conformación de una subunidad influye en la estructura tridimensional de las otras y, por tanto, en su afinidad por el sustrato y su actividad catalítica. El más sencillo, conocido como *modelo concertado*, fue propuesto en 1965 por Monod, Wyman y Changeux. El modelo postula que en la proteína oligomérica, cada monómero puede existir en dos estados conformacionales, uno tenso (T), incapaz de unir al sustrato, y uno relajado (R), con afinidad alta por éste. Estos dos estados conformacionales están en equilibrio. En ausencia de sustrato, el equilibrio está muy desplazado hacia la forma tensa (Fig. 9-12). Además, la proteína oligomérica debe conservar siempre su simetría, por lo que todas las subunidades deben encontrarse en el mismo estado conformacional. Por ejemplo, para una proteína dimérica, los estados posibles serían R₂ o T₂, sin que se dieran dímeros del tipo RT.

Puesto que el sustrato se une solamente a la forma R₂, su presencia desplaza el equilibrio entre las formas T y R hacia esta última. Por tanto, en el caso de una proteína dimérica, la unión de una molécula de sustrato estabiliza un sitio de unión

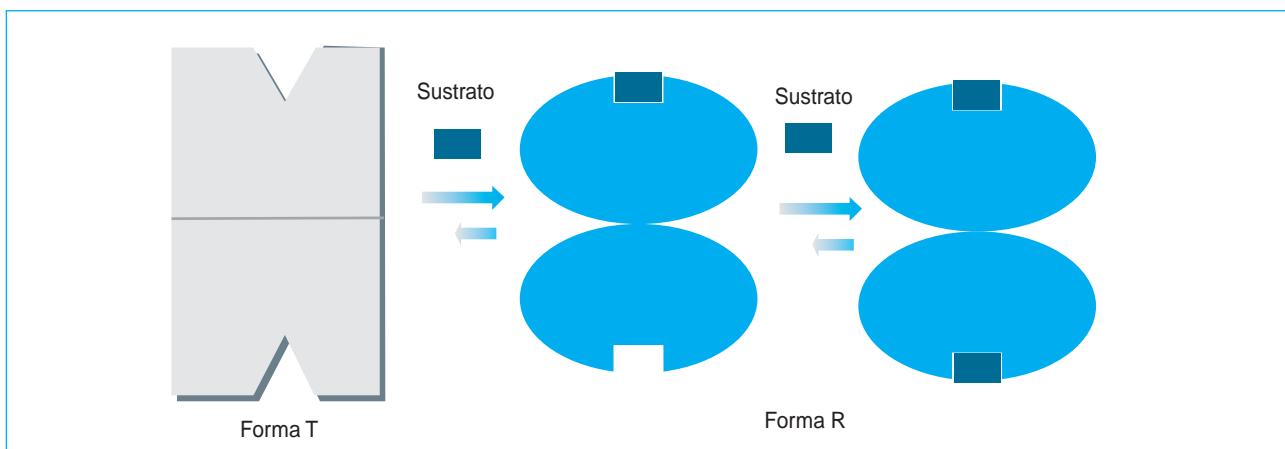


Figura 9-12. Modelo concertado de Monod-Wyman-Changeux para la unión del sustrato a una enzima alostérica dimérica. Los monómeros implicados pueden existir en dos estados conformacionales, T o R, pero la exigencia de simetría del modelo hace que sólo se postulen dímeros R₂ o T₂. Los primeros son estabilizados por la presencia del sustrato, lo que explica la cooperatividad positiva, al ser mayor la afinidad de la forma R por el sustrato.

libre en forma R y facilita la unión de otra molécula del sustrato. Esta interacción entre moléculas de sustrato se denomina *homotrópica*, ya que afecta a moléculas del mismo tipo. En las enzimas alóstéricas, se dan también interacciones *heterotrópicas*, en las que la unión de un ligando altera la afinidad de la enzima por un ligando diferente. Las interacciones heterotrópicas tienen muy a menudo un significado regulador si la unión de un efecto altera la afinidad de la enzima por el sustrato, aumentándola o disminuyéndola.

De acuerdo con el modelo concertado, los efectos heterotrópicos pueden explicarse postulando la existencia de sitios de unión específicos, denominados *sitios alóstéricos*, distintos del centro activo. Cuando el sitio de unión está asociado a la forma T, la presencia del ligando desplaza aún más el equilibrio entre las formas T y R hacia la primera, y el ligando se comporta como un inhibidor. Por el contrario, la presencia de un ligando con afinidad por un sitio alóstérico, característico de la forma R, desplaza el equilibrio conformacional de la enzima hacia ésta favoreciendo la unión del sustrato. Este tipo de sustrato se comportaría como un activador. El efecto de la presencia de activadores o inhibidores alóstéricos sobre las curvas de saturación de una enzima alóstérica típica se muestra en la Figura 9-13. La $S_{0.5}$ disminuye en presencia de los activadores y aumenta en presencia de los inhibidores.

El modelo concertado da cuenta, al menos cualitativamente, del comportamiento de muchas proteínas alóstéricas.

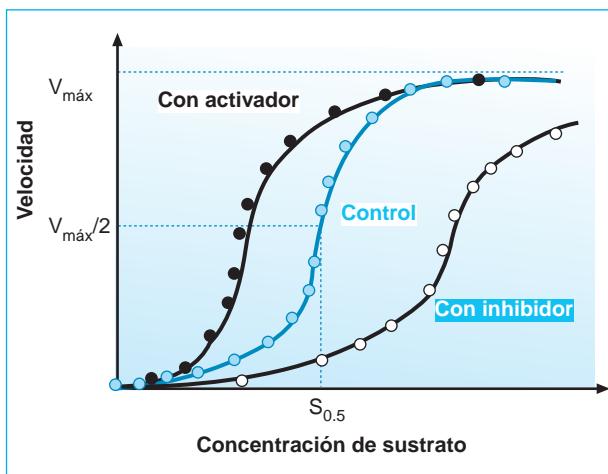


Figura 9-13. Efecto de activadores e inhibidores sobre las curvas de saturación de una enzima alóstérica. Los inhibidores alóstéricos desplazan el equilibrio de la enzima hacia la forma T, al unirse a ésta exclusivamente. El resultado es una disminución en la afinidad de la enzima por su sustrato, que se manifiesta por un desplazamiento de la curva hacia la derecha. Por el contrario, los activadores alóstéricos se unen a la forma R, desplazando la curva de saturación en el sentido de una mayor afinidad.

Sin embargo, las propiedades cinéticas de algunas enzimas alóstéricas se explican mejor por el *modelo secuencial*, propuesto por Koshland, Nemethy y Filmer en 1966. Según este modelo, que también supone la existencia de los estados tenso y relajado, la unión del sustrato a cualquiera de las subunidades de la proteína alóstérica provoca un cambio conformacional en la misma, que se comunica a las demás subunidades, produciendo una alteración moderada, en lugar de la transición concertada a la forma R. Por tanto, pueden existir oligómeros formados por subunidades de los dos tipos, R y S. Sin embargo, el pequeño cambio conformacional provocado en las subunidades libres es suficiente para aumentar o disminuir su afinidad por el sustrato.

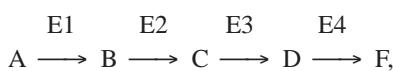
Esta premisa da cuenta de la cooperatividad en la unión del sustrato y permite además, explicar la incidencia de interacciones homotrópicas negativas. En el modelo concertado, la unión de una molécula de sustrato debe favorecer siempre la entrada al centro activo de las subunidades libres de nuevas moléculas del sustrato (interacción homotrópica positiva). El modelo secuencial no plantea este requisito, ya que el cambio conformacional inducido en las subunidades libres puede, en teoría, disminuir su afinidad por el sustrato.

9.15 REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

Además de acelerar las reacciones en que participan, las enzimas permiten regular su velocidad para adaptarla a las necesidades metabólicas del organismo. Esta regulación puede ejercerse por varios mecanismos. Puesto que muchos de ellos se estudiarán a lo largo de la descripción del metabolismo y su regulación, nos limitaremos aquí a un comentario muy breve de los más relevantes.

9.15.1 Regulación por efectores

Tal y como ya hemos comentado, la existencia de efectores permite modificar la velocidad de las reacciones enzimáticas. Estos ligandos pueden actuar como señales químicas que ajusten la velocidad de algunas vías metabólicas a los requerimientos celulares. Un ejemplo es la regulación por *feedback* o *retroalimentación*. Consideremos una vía biosintética del tipo:



en la que un precursor A es transformado en un compuesto F. En el caso ideal, la vía debe fabricar tanto F como sea necesario, pero no más. Esto puede conseguirse si F es un inhibi-

dor de la enzima E1. Si la concentración de F supera las necesidades de la célula, este compuesto empezará a acumularse, inhibiendo a la enzima que comienza su biosíntesis. Este tipo de regulación asegura que la célula no pierda innecesariamente energía metabólica ni precursores biosintéticos.

Las proteínas enzimáticas pueden regularse, además de por ligandos de bajo peso molecular, por interacción con otras proteínas. Estas interacciones proteína-proteína son esenciales, entre otros casos, en el mecanismo de acción de muchas hormonas (véase el Cap. 12).

9.15.2 Modificación covalente

La actividad de muchas enzimas puede modificarse mediante la unión covalente de un grupo químico a la cadena lateral de algún aminoácido de la proteína. Normalmente, esta modificación química requiere la participación de otra enzima. El ejemplo más importante de este tipo de regulación es, sin duda, la interconversión de enzimas mediante *fosforilación-desfosforilación*. Muchas proteínas pueden ser fosforiladas por adición de un grupo fosfato a una cadena lateral de

aminoácidos que contengan un grupo hidroxilo (serina, treonina, o tirosina) (Fig. 9-14). Las reacciones de fosforilación están catalizadas por enzimas específicas, denominadas *quinasas*. El donador de fosfato es normalmente el ATP. La introducción de un grupo fuertemente cargado altera la conformación de la enzima fosforilada, modificando su actividad. Así, muchas enzimas clave en el control del metabolismo son activas en forma fosforilada e inactivas en forma desfosforilada, o viceversa. El éster fosfórico formado es estable en ausencia de enzimas que lo hidrolicen. Los equilibrios de fosforilación-desfosforilación requieren, por tanto, la participación de *fosfatases*, que catalizan la hidrólisis del éster fosfórico y restituyen la enzima nativa. La actividad de las *quinasas* y las *fosfatases* está muy frecuentemente bajo control hormonal (véase el Cap. 12), lo que explica su participación central en la regulación e integración del metabolismo.

Aunque la fosforilación es, sin duda, la modificación química de mayor importancia en la regulación enzimática, existen otros tipos de modificación covalente. Es relativamente frecuente la *metilación* de residuos de lisina, arginina o histidina, actuando como donador de grupos metilo la

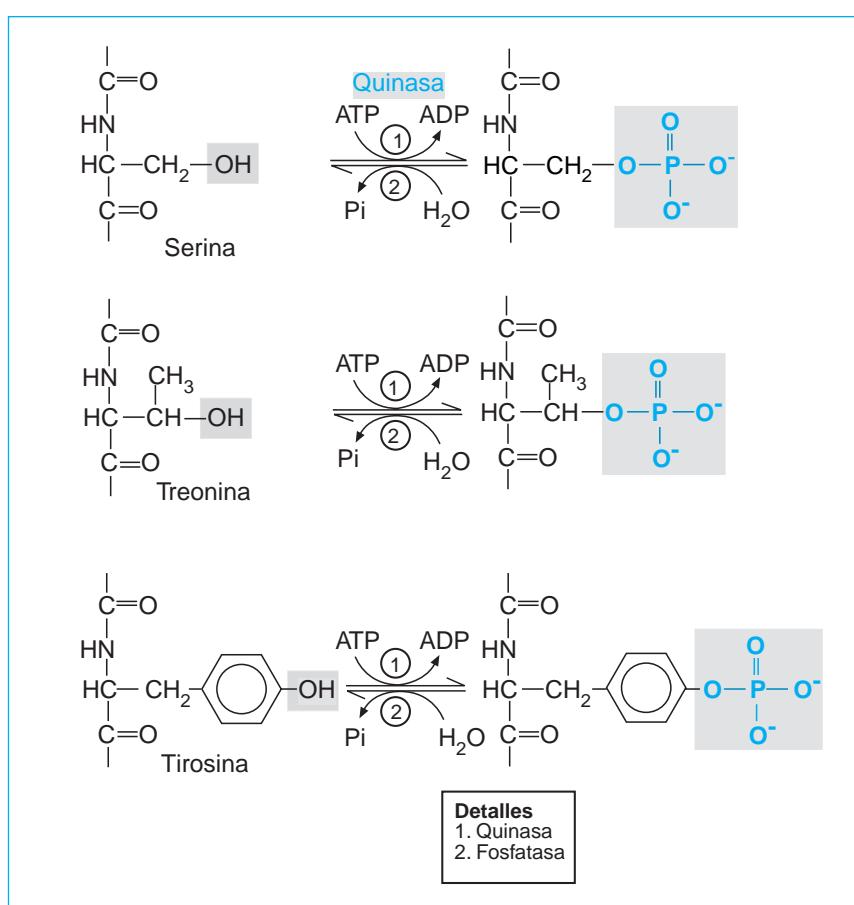


Figura 9-14. Equilibrios de fosforilación-desfosforilación de proteínas, catalizados por quinasas y fosfatases. La fosforilación de las proteínas en residuos que contengan grupos hidroxilo, catalizada por proteína quinasas, supone la aparición de un éster fosfórico. Este éster puede hidrolizarse mediante una fosfatasa, que libera fosfato y restituye el hidroxilo libre. Se regenera entonces la forma inicial de la proteína, por lo que la fosforilación es una modificación reversible.

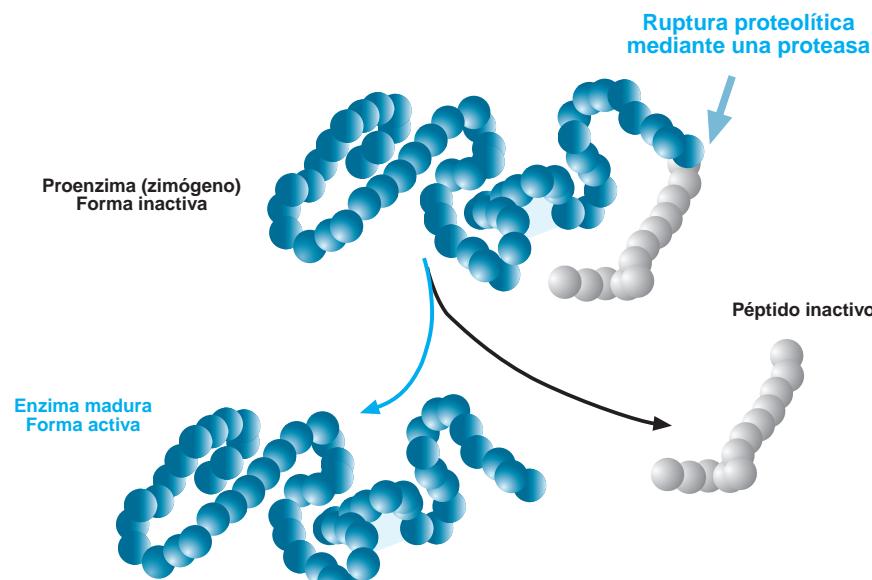


Figura 9-15. Activación proteolítica de zimógenos. Un precursor enzimáticamente inactivo, denominado zimógeno, puede activarse cuando sufre un corte proteolítico que libera un péptido y genera la forma madura de la enzima. A menudo, la separación del péptido hace accesible un centro activo previamente oculto.

S-adenosilmetionina. La *adenilación* y la *ADP-ribosilación* de residuos de tirosina están asociadas, además de a mecanismos de regulación normales, a algunas situaciones patológicas. Estos tipos de modificación son catalizados por toxinas microbianas, como la toxina del cólera.

9.15.3 Activación de zimógenos

Algunas enzimas se sintetizan como precursores inactivos, denominados *proenzimas* o *zimógenos*, de masa molecular mayor que la enzima madura activa. La activación se produce por separación de uno o varios fragmentos del polipéptido original, en un proceso proteolítico catalizado por una proteasa específica (Fig. 9-15).

En este caso, y a diferencia de los equilibrios de fosforilación-desfosforilación, la activación es irreversible. Éste es un mecanismo común de regulación de las proteasas, y

participa en procesos como la coagulación sanguínea, la fibrinólisis, la fijación del complemento y la digestión de las proteínas de la dieta. También es clave en la regulación de los procesos de muerte celular por apoptosis (véase el Cap. 27).

Los mecanismos comentados no agotan las posibilidades de regulación de la actividad enzimática. A lo largo de la descripción del metabolismo veremos, por ejemplo, que distintas enzimas pueden asociarse formando *complejos multienzimáticos* para optimizar el flujo de ciertas vías metabólicas. Además, la cantidad de una enzima determinada presente en la célula puede variarse controlando los procesos de transcripción y traducción de la información genética. La variedad y la complejidad de los mecanismos de regulación de la actividad enzimática dan una idea de la importancia de que cada reacción transcurra a la velocidad adecuada para el conjunto del metabolismo celular.

RESUMEN

- Las enzimas son catalizadores biológicos, de naturaleza proteica, que presentan especificidad de sustrato y de reacción, así como una capacidad catalítica elevada. Como cualquier catalizador, aceleran las reacciones en las que participan, pero no alteran la posición final del equilibrio.
- Las propiedades catalíticas de las enzimas están ligadas a la presencia de un centro activo, que une el sustrato y estabiliza el estado de transición de la reacción. En el centro activo se dan factores de proximidad y orientación relativa de los sustratos, fenómenos de superficie y procesos de distorsión de enlaces. El centro activo puede contener cadenas laterales de aminoácidos capaces de participar en procesos de catálisis ácido-base o covalente.
- Muchas enzimas son proteínas conjugadas que contienen un grupo no proteico denominado cofactor, imprescindible para la actividad catalítica. Estos cofactores pueden ser iones metálicos o moléculas orgánicas complejas.
- Las coenzimas suelen sintetizarse por el organismo a partir de moléculas más sencillas, las vitaminas hidrosolubles, que deben aportarse por la dieta, ya que el organismo no puede llevar a cabo su síntesis *de novo*.
- El aporte inadecuado de vitaminas conduce a situaciones de hipovitaminosis o avitaminoisis, normalmente asociadas a malnutrición, pero que pueden aparecer en personas que siguen una dieta normal como consecuencia de algunas situaciones fisiológicas o patológicas.
- La velocidad máxima de una reacción enzimática es directamente proporcional a la concentración de la enzima. El factor de proporcionalidad se conoce como constante catalítica (k_{cat}).
- Muchas enzimas presentan un comportamiento cinético michaeliano, caracterizado por curvas de velocidad frente a la concentración de sustrato, que se ajustan a una hipérbola rectangular. Matemáticamente, este comportamiento se refleja en la ecuación de Michaelis-Menten, que define una constante de Michaelis (K_M), relacionada con la afinidad de la enzima por el sustrato.
- La mayoría de las enzimas presentan una curva acampanada de actividad frente a pH, que define un pH óptimo. Éste suele coincidir con el pH del medio fisiológico en el que actúa la enzima. El efecto de la temperatura es más complejo, ya que intervienen dos factores contrapuestos: la aceleración de cualquier reacción química cuando la temperatura aumenta, y la desnaturalización térmica de la proteína enzimática a temperaturas elevadas.
- Las representaciones hiperbólicas de velocidad frente a la concentración de sustrato pueden linearizarse por tratamientos matemáticos simples, conduciendo a representaciones como las de Lineweaver-Burk o Eadie-Hofstee, muy útiles para la determinación de los parámetros cinéticos y para el estudio de los inhibidores.
- Los inhibidores de las reacciones enzimáticas se clasifican en reversibles e irreversibles. Los primeros se unen a la enzima por enlaces no covalentes y pueden ser desplazados de su sitio de unión, con lo que se recupera la actividad enzimática inicial. Los irreversibles se unen muy fuertemente a la enzima, normalmente por enlaces covalentes, y la inactivan permanentemente.
- Existen distintos tipos de inhibidores reversibles que pueden distinguirse por criterios cinéticos. Algunos tienen importantes aplicaciones farmacológicas.
- Algunas enzimas denominadas alóstéricas presentan curvas de saturación sigmoides en lugar de hiperbólicas.
- El comportamiento alóstérico se explica en función de la existencia de varios sitios de unión para los sustratos, conformacionalmente conectados, de manera que la ocupación de uno de ellos altera la afinidad de los demás por el sustrato. Este comportamiento se denomina cooperatividad.
- Mientras que el modelo concertado de Monod-Wyman-Changeux sólo permite explicar la cooperatividad homotrópica positiva, el modelo secuencial de Koshland-Nemethy-Filmer, también es compatible con la existencia de homotropismo negativo.
- La actividad de muchas enzimas puede regularse para adecuarla a las necesidades metabólicas. Los principales mecanismos de regulación son los efectores positivos o negativos y la modificación covalente, reversible o irreversible.
- Un tipo frecuente de regulación por efectores es la retroalimentación, en la que el producto de una vía metabólica inhibe reversiblemente la enzima que inicia la vía. Esto permite ralentizar rutas metabólicas cuando la cantidad de producto formado es suficiente.
- La activación proteolítica de zimógenos es un mecanismo de regulación por modificación covalente irreversible, que participa en procesos importantes como la digestión, la coagulación o la apoptosis.
- La fosforilación de las proteínas en residuos de treonina, serina o tirosina, catalizada por *proteína quinasas*, es la forma de regulación de la actividad enzimática más ubicua y versátil. Puede revertirse por acción de *fosfatasas*. Está íntimamente ligada a la integración del metabolismo y participa en la regulación prácticamente todos los aspectos de la fisiología celular, incluida la proliferación y la diferenciación.

EVALUACIÓN

1. (B). Una enzima, en el proceso que cataliza, no produce modificación de:
 1. El cambio de entalpía.
 2. El cambio de energía libre.
 3. La constante de equilibrio.
 4. El cambio de entropía.

a b c d e

2. (A). Factores de la catálisis enzimática:
 - a. Los factores de proximidad y orientación consiguen el incremento de la concentración efectiva de los sustratos.
 - b. Los de superficie nunca poseen relevancia.
 - c. Los de distorsión se explican por la teoría de Fischer del acoplamiento enzima-sustrato.
 - d. El centro activo suele tener una menor complementariedad con el estado de transición que con el propio sustrato.
 - e. Nada de lo anterior es cierto.

3. (B). Catálisis covalente:
 1. Es el mecanismo general de todos los procesos enzimáticos.
 2. Se caracteriza porque la enzima forma un intermedio covalente con el sustrato.
 3. Significa que una enzima que actúe de acuerdo a un mecanismo de este tipo es igualmente efectiva hacia sus diferentes sustratos.
 4. La enzima *acetylcolinesterasa* basa su acción en la catálisis covalente

a b c d e

4. (A). En una enzima michaeliana:
 - a. Para que el valor de la velocidad de reacción (v) sea $V_{\max}/20$, se ha de cumplir que $[S] = K_M/19$.
 - b. v será igual a $V_{\max}/10$ siempre que $[S] = K_M/11$.
 - c. Cuando $V_{\max}/2$, ha de ocurrir que $[S] = K_M/2$.
 - d. No existe una relación directa entre v y V_{\max} .
 - e. La $[S]$ nunca puede ser igual a K_M , ya que este parámetro es una constante de velocidad y no de concentración.

5. (A). Linearizaciones de la ecuación de Michaelis-Menten:
 - a. Es una operación matemáticamente imposible.
 - b. Para conseguirlo, la mejor alternativa consiste en obtener la derivada de la ecuación.
 - c. En el método de Lineweaver-Burk en ordenadas se representa la inversa de la velocidad.
 - d. En el método de Eadie-Hofstee, en ordenadas se representa la velocidad de la reacción.
 - e. En ambos métodos, en abscisas se representan las inversas de las concentraciones de sustrato.

6. (A). Temperatura y cinética enzimática:
 - a. Todas las enzimas conocidas poseen temperaturas óptimas situadas en el rango de 20 °C a 40 °C.
 - b. Las curvas de actividad frente a la temperatura suelen tener formas acampanadas.
 - c. La temperatura óptima de una enzima depende de la concentración de sustrato a la que se mida la velocidad de reacción.
 - d. Las enzimas de los organismos termófilos carecen de sensibilidad a la temperatura.
 - e. En los países fríos, la temperatura óptima de las enzimas humanas es unos diez grados inferior a la de las enzimas de los habitantes de las zonas tropicales.

7. (B). El modelo de Koshland, Nemethy y Filmer para enzimas alostéricas:
 1. Se conoce también como modelo secuencial.
 2. En el mismo no se postula la existencia de estados tenso (T) y relajado (R).
 3. Pueden existir oligómeros mixtos del tipo RT.
 4. Es compatible con la existencia de efectos homotrópicos positivos, pero no permite los negativos.

a b c d e

8. (C). En las vías metabólicas plurienzimáticas, el producto final puede controlar la velocidad global por regulación *feedback* o retroalimentación sobre la primera enzima de la vía PORQUE en estos sistemas el producto final siempre es un análogo estructural del sustrato inicial.

a b c d e

9. (A). Coenzimas, vitaminas y grupos prostéticos:
 - a. Los grupos prostéticos no se forman a partir de las vitaminas.
 - b. El tetrahidrofolato participa en reacciones de transferencia de grupos con un átomo de carbono.
 - c. La actuación correcta de la biotina depende de la presencia de avidina.
 - d. El ácido lipoico es un grupo prostético típico de las proteasas.
 - e. Más de una de las afirmaciones anteriores es correcta.

10. (B). Necesidades nutricionales de las vitaminas:
 1. Una dieta rica en vegetales es, por lo general, rica en vitaminas.
 2. Las mujeres embarazadas precisan aportes nutricionales de vitaminas menores que los de varones de edad similar.
 3. Las hipervitaminosis más frecuentes son las causadas por vitaminas liposolubles.
 4. Un exceso de niacina origina la pelagra.

a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Aledo JC, Lobo C, Esteban A: Energy Diagrams for Enzyme-catalyzed Reactions: Concepts and Misconcepts. *Biochem Mol Biol Educ* 2003; 31: 234-236.
- Corma A, García H: Catálisis. *Inv y C* 2003; abril: 68-75.
- Daniel RM, Danson MJ, Eisenthal R: The temperature optima of enzymes: a new perspective on an old phenomenon. *TiBS* 2001; 26: 223-225.
- Fukushima Y, Ushimaru M, Takahara S: On the Error of the Dixon Plot for Estimating the Inhibition Constant between Enzyme and Inhibitor. *Biochem Mol Biol Educ* 2002; 30: 90-92.
- Heinrich R, Meléndez-Hevia E, Cabezas H: Optimization of Kinetic Parameters of Enzymes. *Biochem Mol Biol Educ* 2002; 30: 184-188.
- Núñez I: *Enzimología*. Madrid. Pirámide 2001.
- Pizauro JM jr, Ferro JA, de Lima ACF *et al*: The Zymogen-Enteropeptidase System: A Practical Approach to Study the Regulation of Enzyme Activity by Proteolytic Cleavage. *Biochem Mol Biol Educ* 2004; 32: 45-48.
- Rucker RB, Steinberg FM: Vitamin Requirements: Relationship to Basal Metabolic Need and Functions. *Biochem Mol Biol Educ* 2002; 30: 86-89.
- Todd AE, Orengo CA, Thornton JM: Plasticity of enzyme active sites. *TiBS* 2002; 27: 419-426.

10.1 FUNCIONES DE LAS MEMBRANAS BIOLÓGICAS

Las membranas biológicas tienen una extraordinaria importancia para las células. Las plasmáticas delimitan y separan el contenido intracelular del entorno extracelular; las intracelulares (nuclear, mitocondrial, etc.) contribuyen a la compartimentación de los espacios de la célula y, por ello, a la especialización en funciones concretas intracelulares y a la diversificación de los tejidos.

La primera función de una membrana biológica es la de ser frontera separadora de diferentes compartimentos, con un alto poder de discriminación entre las sustancias a las que dejar pasar o retener, necesitando de la presencia de transportadores específicos para cada tipo de compuesto, sobre todo para los que no son libremente difusibles.

Pero, además, en las membranas también hay enzimas que desempeñan funciones celulares importantes. Así, en la membrana interna mitocondrial se ubican las enzimas de la cadena transportadora de electrones, responsable de la respiración celular (véase el Cap. 13); la del retículo endoplásmico del hígado posee un grupo de enzimas que le permiten metabolizar numerosas sustancias, como determinados fármacos lipofílicos, lo que protege al organismo de su posible acción tóxica. Así pues, la mayoría de las membranas biológicas desempeñan importantes funciones para la vida, además de servir de mera frontera física.

Por otra parte, una célula eucariótica, para ser funcional, debe estar coordinada con el resto de las células y tejidos, de tal forma que sea capaz de responder inmediatamente a las cambiantes exigencias que un entorno en continua evolución plantea. Para que ello sea posible, el sistema endocrino secreta señales, las hormonas (véase el Cap. 12), que salen a la sangre y, por ella, llegan a todos los tejidos del organismo; sin embargo, cada hormona tiene unos órganos o tejidos diana donde actuar. ¿Cómo reconocerlos? La razón es que sus células poseen, muchas veces ubicados en sus membranas, receptores hormonales específicos. Sólo tras la unión de hormona y receptor se desencadena la respuesta molecular adecuada. Cabe decir, pues, que las membranas biológicas cobijan a buena parte de los receptores hormonales.

Pero aún hay más procesos fundamentales para la supervivencia de los seres vivos que tienen su ubicación en las membranas biológicas; una de ellas es la de defensa frente a organismos extraños que pretenden invadirlos para utilizar sus nutrientes. Dicha defensa corre a cargo del sistema inmunitario (véase el Cap. 31), un grupo de células y moléculas encargadas de reconocer y destruir a esos invasores. Para ello, el organismo debe ser capaz de reconocer sus propias células y diferenciarlas de esas otras extrañas que puedan haber penetrado en su interior y, eventualmente, colonizado células y tejidos propios. Para que funcione dicho sistema, las membranas, sobre todo las plasmáticas, poseen moléculas que, al ser analizadas por las del sistema inmunitario, permiten a éstas discriminar entre células propias sanas y células extrañas o propias invadidas, evitando que el ataque contra estas últimas afecte a las primeras. Esas moléculas, también presentes en muchas membranas biológicas, se llaman elementos de reconocimiento celular o antígenos de histocompatibilidad, que podríamos definir como una especie de documento de identidad celular.

Las membranas, por tanto, no son meras fronteras pasivas sin implicación metabólica, sino estructuras vivas de la célula directamente involucradas en la supervivencia celular, tisular y en la del organismo. Es fundamental, pues, que se mantengan funcionales, lo cual, en principio, depende de su integridad. Cualquier factor que atente contra dicha integridad lo hace también contra su supervivencia, la del tejido y la del organismo del que forma parte. En este capítulo se muestra cómo la estructura de las membranas biológicas les permite desempeñar sus funciones y cómo las biomoléculas que las constituyen son las adecuadas para ello, sólido argumento que corrobora uno de los principios de las ciencias biológicas: la estructura de un compuesto está estrechamente relacionada con su función.

10.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ESTRUCTURA DE LAS MEMBRANAS

Para que las membranas puedan desempeñar sus funciones, la evolución ha seleccionado compuestos, fundamentalmen-

te lípidos y proteínas, cuya estructura es ideal para conseguir la naturaleza de mosaico fluido, adecuada a los requerimientos de una membrana. A continuación, se exponen las características más importantes de dichos componentes.

10.2.1 Lípidos

Por término medio, la participación porcentual de estos compuestos varía entre el 40% y el 80% del peso seco de la membrana. Los más abundantes son los fosfatidilgliceroles o fosfolípidos (véase el Cap. 6), debido a su naturaleza anfipática (Fig. 10-1), que posibilita la formación de la bicapa lipídica y la edificación sobre ella del ya citado mosaico fluido (Fig. 10-2).

Como puede observarse en la Figura 10-2, la bicapa es la ordenación espacial que espontáneamente adoptan esos lípidos anfipáticos en un entorno acuoso, con sus zonas hidrofóbicas dirigidas hacia el interior, evitando todo contacto con el agua, y las cabezas polares, por su carácter hidrofílico, hacia el exterior.

Sin embargo, dentro de los lípidos anfipáticos, caben notables variaciones en cuanto a la presencia de cada subgrupo posible de fosfolípidos. Así, aunque la fosfatidilcolina o lecitina suele ser el lípido más abundante en las membranas

plasmáticas de los distintos tejidos de rata, es mucho más frecuente en el hígado (52.2%) que en el corazón (36.6%), mientras que la fosfatidiletanolamina, que supone casi el mismo porcentaje que las lecítinas en el cerebro (36.4% frente al 36.8%), es más escasa en el hígado (25.2%) o en el pulmón (22.2% frente al 46.2% de la lecítina). Ello es aplicable al resto de los fosfolípidos presentes. La causa de estas divergencias es la necesidad de la membrana de servir, en cada célula, a la especificidad funcional de la misma y del tejido del que forma parte. Dependiendo de su estructura, cada fosfolípido tiene unas propiedades fisicoquímicas concretas que transfiere, al menos en parte, a la membrana. Según cuál sea el componente predominante variará la fluidez o la permeabilidad selectiva de la membrana. Por ello, el porcentaje de participación de cada lípido en una membrana dada está pre-determinado genéticamente.

Por otro lado, dentro de cada tipo de fosfolípido también hay diferencias según los ácidos grasos que contenga. Un ácido graso insaturado tiene puntos de fusión notablemente más bajos que uno saturado de igual número de átomos de carbono (véase el Cap. 6). Por ejemplo, el ácido graso saturado de 18 carbonos, esteárico, tiene un punto de fusión de +69.6 °C; el monoinsaturado, oleico ($\Delta_1^9 C_{18:1}$), lo tiene más bajo, +13.4 °C; y el poliinsaturado, linolénico ($\Delta_3^{9,12,15} C_{18:3}$), aún más bajo, -11 °C. Por ello, para una temperatura dada, las membranas que posean un alto porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados en sus lípidos son mucho más fluidas que aquéllas en las que predominan los saturados o monoinsaturados. Buena prueba de esta afirmación es el caso de muchos tipos de bacterias capaces de sobrevivir en diferentes ambientes: si se las cultiva a temperaturas bajas, presentan abundancia de ácidos grasos poliinsaturados en sus lípidos de membrana; sin embargo, a temperaturas más moderadas, sus ácidos grasos más abundantes son saturados. Los mamíferos, que suelen tener una temperatura corporal más estable, son menos adaptables al medio; pero se sabe que los lípidos de las membranas biológicas de los animales que viven en climas fríos son más ricos en ácidos grasos insaturados que los de otros animales, incluso de la misma especie, de ambientes más templados. Todo ello conduce a que las membranas mantengan su fluidez en condiciones extremas.

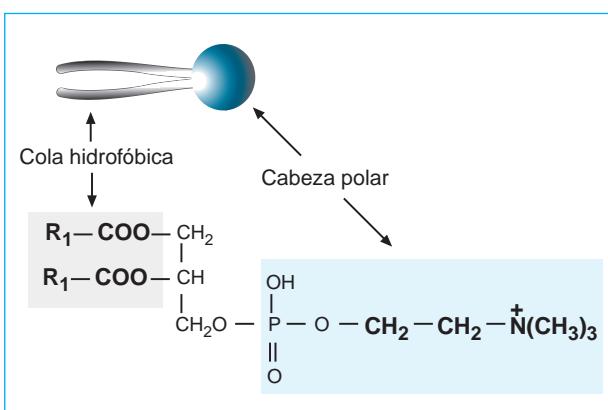


Figura 10-1. Carácter anfipático de los fosfolípidos. Poseen una cabeza polar debido a las cargas del fósforo y de los grupos ionizables, así como una cola hidrofóbica con interacciones de este tipo entre los esqueletos hidrocarbonados.

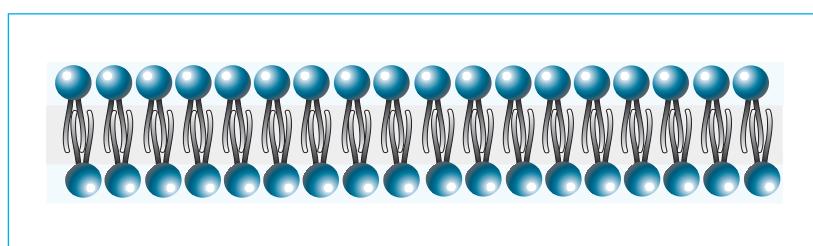


Figura 10-2. Estructura de una bicapa lipídica. Las zonas hidrofílicas son las exteriores, mientras que la interior es hidrofóbica.

Un lípido muy abundante en las membranas biológicas es el colesterol. No forma, por sí solo, bicapas lipídicas, pero se integra en las previamente existentes, contribuyendo a modular sus propiedades. De hecho, suele estar presente en casi todas ellas, aunque en porcentaje diferente; la mielina, membrana que protege los axones nerviosos, presenta la proporción más elevada de colesterol (véase el Cap. 33). Su capacidad de integración se debe a que también tiene un cierto carácter anfipático, con una pequeña cabeza polar (su grupo 3- β -OH) que puede orientarse en la bicapa hacia la zona de las cabezas polares de los fosfolípidos, mientras que el resto de la molécula, la zona hidrofóbica, queda junto a la cola hidrofóbica de los fosfolípidos. Por su longitud, el sistema de anillos rígidos y el sustituyente hidrofóbico en C17, penetran hasta la altura aproximada del C10 de las cadenas acilo de los fosfolípidos. De este modo, la estructura rígida y apolar de la zona hidrofóbica del colesterol impide que se establezcan contactos estrechos entre las cadenas acilo saturadas, imposibilitando la expresión de las propiedades que se derivarían de estos contactos, como un aumento del punto de fusión. Por tanto, la membrana, incluso formada por ácidos grasos saturados, será más fluida a una temperatura dada, que si no hubiese colesterol en ella. Sin embargo, sobre las cadenas acilo insaturadas, el efecto del colesterol es justo el contrario, ya que su estructura rígida le permite encajar entre los acodamientos de las zonas posteriores hidrocarbonadas con alto porcentaje de dobles enlaces *cis*, lo que produce un efecto de incremento de interacciones tipo fuerzas de van der Waals que permite una mayor cohesión entre los grupos acilo y, con ello, que aumente el punto de fusión y disminuya la fluidez de la bicapa (Fig. 10-3). El efecto neto, pues, del colesterol sobre la membrana en la que se ubica es el de mantener una fluidez media y más constante frente a las fluctuaciones que tendría en su ausencia, o sea, una mayor independencia de la temperatura del medio.

Desde el punto de vista del control genético, no existen mecanismos para que cada ácido graso concreto ocupe una determinada posición en cada uno de los fosfolípidos de la membrana lipídica; sólo hay mecanismos de control de las características globales que deben tener. El ácido graso individual que ocupe cada posición dependerá, en buena medida, de la dieta que se ingiera.

10.2.2 Proteínas

Todas las membranas biológicas tienen proteínas como constituyentes, y el porcentaje de peso seco proteínico de cada una de ellas es una característica genéticamente prevista, seguramente mediante la regulación de su síntesis. Este porcentaje es muy variable de una a otra membrana, con cifras que oscilan entre el 50% y el 70%, con alguna excepción;

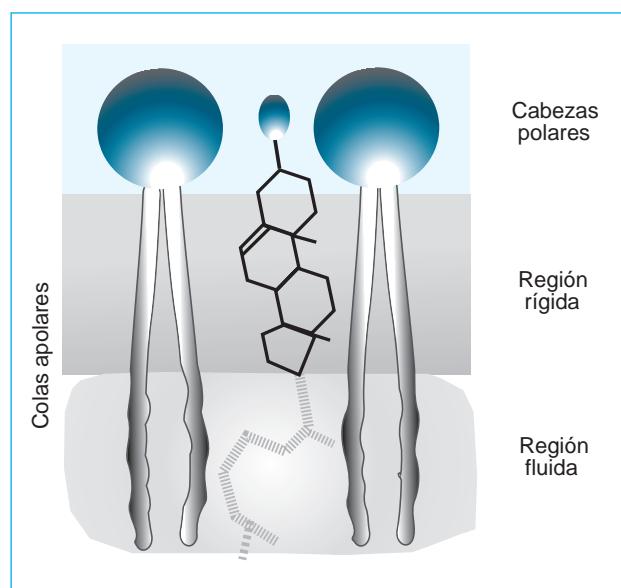
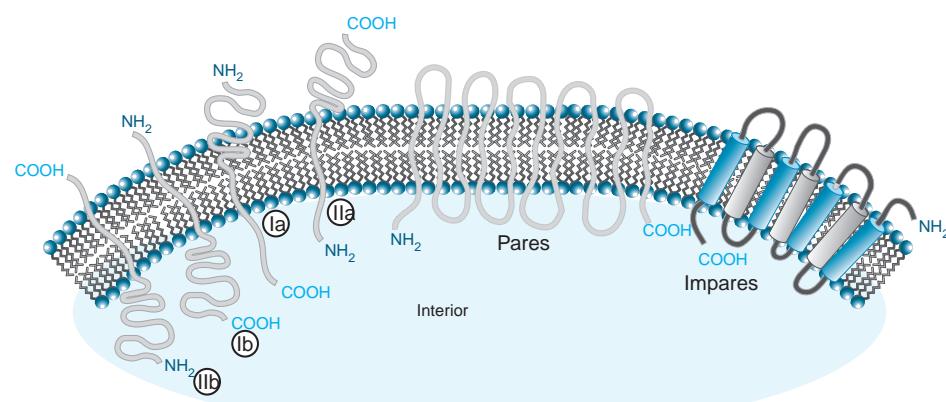


Figura 10-3. Papel del colesterol sobre los fosfolípidos de la membrana. La porción hidroxílica e hidrofílica del colesterol interacciona con las cabezas polares de los fosfolípidos, mientras que en el resto de la zona de interacción de la molécula, situada en paralelo con las de los fosfolípidos, pueden distinguirse una zona rígida central y otra fluida, final.

una vez más, la mielina es distinta: sólo un 19% de su peso seco son proteínas.

Las proteínas que realmente pueden considerarse miembros de la membrana, las denominadas intrínsecas, se integran dentro de la bicapa lipídica (Fig. 10-4) y contribuyen a la formación del mosaico fluido que caracteriza a las membranas en virtud de su mayor o menor grado de hidrofobicidad. A veces se habla de un segundo tipo de proteínas de membrana, las extrínsecas, que en realidad sólo mantienen ligazón, más o menos intensa, con algún componente intrínseco de la membrana, por lo que bastan leves tratamientos para separarlas de la misma, a diferencia de las intrínsecas, tan firmemente unidas a la estructura membranosa que la mayor parte de las veces su separación de ella implica la destrucción de la membrana.

Todos los componentes de la bicapa pueden moverse lateralmente, debido al demostrado carácter fluido de las membranas. Esta libertad, sin embargo, no es total: algunas proteínas están ligadas, incluso de forma covalente, a componentes del citoesqueleto celular, por lo que sólo pueden moverse de un modo restringido; por otra parte, las pequeñas porciones de fosfolípidos que rodean a una proteína dada establecen relaciones estructurales tan estrechas con ella que sólo pueden moverse solidariamente con la misma. Por el contrario, los movimientos en profundidad, hacia dentro de

**Detalles**

Tipo I a) Glucoforina, receptor de LDL, receptor de insulina
b) Citocromo P₄₅₀

Tipo II a) Receptor de transferrina; galactosil transferasa del Golgi, sialitrasferasa
b) Citochrome b₃

Varios fragmentos transmembrana:

Pares: Proteína transportadora de glucosa (GluT 1)

Impares: Receptor β adrenérgico, rodopsina, receptor de melanocortinas

Figura 10-4. Diferentes tipos de proteínas intrínsecas de la membrana. Las proteínas integrales de la membrana se pueden clasificar en dos grandes grupos, en función de su orientación respecto al interior y exterior celular. Las de tipo I poseen el extremo amino terminal orientado al exterior de la célula. Las de tipo II son las que tienen el extremo amino terminal orientado al interior celular. Independientemente de su orientación, pueden contener uno o varios fragmentos transmembrana. En caso de tener más de uno, según sea el número de fragmentos transmembrana par o impar, los extremos amino terminal y carboxilo terminal quedan orientados hacia el mismo lado o hacia lados opuestos. En las proteínas de paso múltiple, existen secuencias de inserción y fijación a la membrana (en azul) y secuencias de detención de la inserción y fijación (en gris).

la bicapa (movimientos flip-flop, onomatopeya de la acción de un chapuzón), son termodinámicamente imposibles, pues implicarían la estancia, más o menos prolongada, de las zonas hidrofílicas de los lípidos o proteínas en movimiento en el interior de la zona hidrofóbica de la bicapa. Sólo un gran aporte energético lo haría posible, lo que podría implicar la destrucción de la bicapa.

En resumen, las membranas biológicas son bicapas lipídicas en cuyo interior se integran proteínas, constituyendo una masa dinámica y fluida en la que casi todos sus componentes gozan de movilidad lateral. La participación porcentual de cada tipo de componente (proteínas y lípidos) en una membrana dada es una característica predeterminada genéticamente, así como la de cada subgrupo (fosfolípidos o colesterol, entre los lípidos; enzimas, receptores hormonales o antígenos de histocompatibilidad, entre las proteínas), pero no existe ninguna enzima, o grupo de ellas, encargada de ensamblar los distintos componentes, una vez sintetizados, en el conjunto final. Dicho ensamblaje se rea-

liza espontáneamente, como consecuencia de los condicionamientos termodinámicos existentes. Concretamente, cada molécula de ácido graso individual que forma parte de algún lípido de la bicapa depende del metabolismo celular y, en última instancia, de la dieta, pues no hay que olvidar el carácter esencial (véase el Cap. 15) de algunos ácidos grasos poliinsaturados, indispensables para el ordenamiento de la bicapa.

10.3 TRANSPORTE A TRAVÉS DE MEMBRANA

Una de las funciones de las membranas biológicas es la de servir de barrera separadora entre el medio circundante por ella y el entorno; sin embargo, en todos los casos conocidos existe algún intercambio de materiales a través de las mismas. Por su estructura, no han de ser demasiadas las biomoléculas que la atraviesan libremente; presumiblemente, podrán atravesarla por difusión sólo las moléculas de

pequeño tamaño y de naturaleza lipídica, similares a los componentes de la bicapa. La difusión es un fenómeno estrictamente físico en el que el compuesto que pasa no interacciona con ninguno de los componentes de la membrana. La sustancia permeable, siempre que esté más concentrada a un lado de la membrana, tenderá a atravesarla hasta que las concentraciones se igualen, es decir, hasta que desaparezca el gradiente de concentración que ha desencadenado el proceso. La velocidad de difusión viene definida por la primera ley de Fick:

$$v = -\partial \cdot dm/dx,$$

donde dm/dx es el gradiente de concentración de la sustancia a difundir, y ∂ es un factor de proporcionalidad. Normalmente, sólo las pequeñas moléculas lipídicas, ciertos gases (O_2 , CO_2) y el agua atraviesan las membranas por difusión.

Para la mayor parte de las membranas y de las biomoléculas, el paso de éstas no se realiza siguiendo la cinética de la ley de Fick, sino que la velocidad de paso aumenta proporcionalmente al gradiente de concentración hasta alcanzar un valor máximo, por encima del cual ya no aumenta (fenómeno de saturación) (Fig. 10-5). La variación de la velocidad de paso con el gradiente de concentración no es lineal, sino hiperbólica, semejante a la que define la actividad catalítica de una enzima michaeliana en función de la concentración de sustrato (véase el Cap. 9). Otra diferencia fundamental con la difusión la constituye el hecho de que, en ocasiones, la velocidad de paso de una determinada biomolécula a través de una membrana se ve modificada, no sólo por su propio gradiente de concentración, sino por el de una o varias moléculas de estructura semejante; por ejemplo, la velocidad de entrada de la D-glucosa al eritrocito depende,

aparte de su propio gradiente de concentración, del existente respecto a su epímero, la D-galactosa (fenómeno de competitividad).

Todas estas características indican la participación en el proceso de algún componente de la membrana, denominado sistema de transporte, transportador, *portador* o, incorrectamente, translocasa o permeasa (puesto que la mayor parte de los transportadores no tiene carácter enzimático), al que se une la sustancia en cuestión para atravesarla. Los fenómenos de saturación y de competitividad se explican por la cantidad limitada de transportador existente, y el proceso se conoce como transporte mediado pasivo (el adjetivo pasivo indica que se efectúa espontáneamente, con un $\Delta G'$ negativo, hasta que desaparece el gradiente de concentración) o como difusión facilitada, aunque esta denominación no sea muy correcta.

El sistema puede funcionar en ambos sentidos, pero siempre a favor de gradiente: el transportador de glucosa del eritrocito introduce el azúcar de la sangre en la célula, pero si la concentración de glucosa es mayor en el eritrocito que en la sangre lo saca hasta igualar las concentraciones a ambos lados de la membrana. Los transportadores aislados hasta la fecha son de carácter proteínico, lo que significa que esta función hay que añadirla al resto de las realizables por las proteínas intrínsecas de membrana, ya definidas con anterioridad: estructurales, receptores hormonales o antígenos de histocompatibilidad.

Aunque el proceso termodinámicamente favorecido sea el transporte mediado pasivo, hay ocasiones en que hace falta un transporte capaz de funcionar en contra de un gradiente de concentración. Un ejemplo es el de la absorción de los productos de la digestión por el intestino, previa a su transporte a los tejidos (véase el Cap. 11), ya que no sería lógico dejar que se perdiera en las heces, sin ser absorbida, una buena parte de las moléculas obtenidas a partir de los alimentos, tras un proceso largo y costoso como la digestión, lo que ocurriría al desaparecer su gradiente entre ambos lados de las membranas celulares del intestino. Por ello, existe otro tipo de transporte mediado, denominado transporte mediado activo, dependiente de la energía metabólica que la célula genera, que consigue concentrar la biomolécula que transporta en uno de los lados de la membrana, en contra de gradiente.

Este proceso no es espontáneo (tiene un $\Delta G'$ positivo), por lo que ha de funcionar simultáneamente con otro exergónico que, al liberar energía, lo financie. A diferencia del pasivo, este transporte mediado activo sólo funciona en un determinado sentido, por lo que se dice que tiene carácter vectorial. También se denomina transporte de concentración por razones obvias; por esas mismas razones, el pasivo puede ser llamado también transporte de equilibrio.

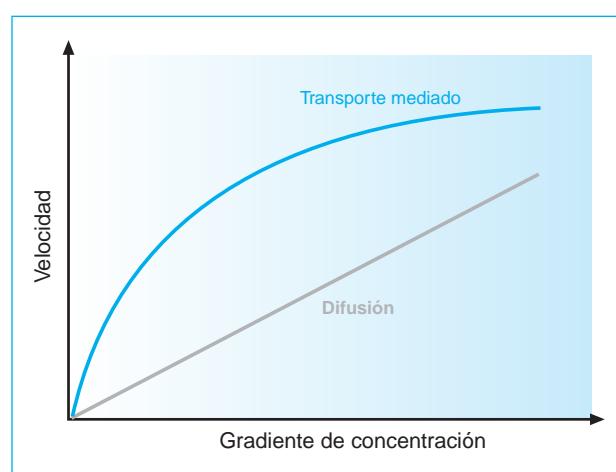


Figura 10-5. Cinética de la difusión simple y del transporte mediado.

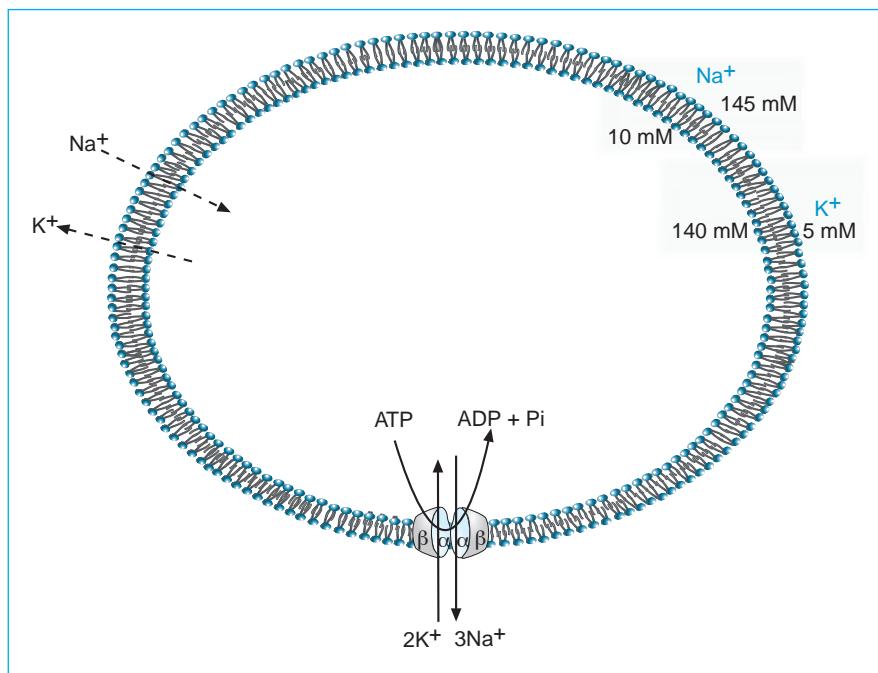


Figura 10-6. Esquema de la ATPasa Na^+/K^+ . Posee 2 subunidades α catalíticas y dos β reguladoras. Tras unirse con los iones sodio, la fosforilación de las subunidades α ocasiona un cambio conformacional que favorece la salida de los iones sódicos y la unión con los potásicos. La desfosforilación de la enzima permite la liberación de los iones de potasio en el interior.

Por la forma en que un sistema de transporte activo depende de la energía metabólica pueden distinguirse dos subclases: primario, si la dependencia es directa, y secundario, cuando la dependencia de la energía no es directa. Un ejemplo muy difundido del primer tipo, que funciona en prácticamente todas las células vivas, desempeñando funciones tan vitales como el mantenimiento del equilibrio osmótico con el entorno, es el de la ATPasa Na^+/K^+ (Fig. 10-6). Este sistema extrae tres iones sodio de las células, al tiempo que introduce dos potasio, en ambos casos contra gradiente. Para conseguirlo, utiliza la energía de la hidrólisis del ATP, que efectúa el mismo transportador, que posee actividad ATPasa. La eficiencia del sistema se demuestra por el hecho de que, en células de mamífero, la concentración intracelular de Na^+ y K^+ es 5-15 mM y 140 mM, mientras que en el entorno extracelular oscila alrededor de 140 mM y 5 mM, respectivamente (véase la Tabla 33-1). El mantenimiento de estos gradientes de concentración consume grandes cantidades del ATP de las células, destacando el caso de las células neuronales, que utilizan para ello casi un 70% del ATP que obtienen.

A parte de los ejemplos descritos, cabe decir que el transporte activo primario más extremo que existe en los mamíferos es la secreción de H^+ al lumen estomacal, desde las células de la mucosa que tapizan el estómago para efectuar la digestión; desde un pH de partida de 7.4, se consigue llegar a uno cercano a 1, lo que implica una concentración de los protones del orden de más de un millón de veces, con un enorme gasto energético.

También hay abundantes ejemplos de transporte mediado activo secundario. Uno de ellos es el que, en el enterocito, concentra D-glucosa y también D-galactosa (ambos azúcares compiten por uno de los centros activos del sistema) aprovechando el gradiente de Na^+ creado por una ATPasa Na^+/K^+ ubicada también en la membrana celular. El Na^+ entra a favor de gradiente, unido a otro centro activo destinado a él, y arrastra el azúcar contra gradiente. El transportador sólo funciona si la glucosa, o la galactosa, saturan su centro activo y, simultáneamente, el Na^+ lo hace con el suyo (Fig. 10-7). Acoplados los dos sistemas, el de los azúcares concentra glucosa (y galactosa) a costa de deshacer el gradiente de Na^+ creado por la ATPasa.

Este tipo de transporte es activo, porque si no hay aporte de energía (ATP u otras alternativas, como la de la acumulación quimiosmótica asimétrica de H^+ ; véase el Cap. 13) no se crea el gradiente de Na^+ y no se introduce el azúcar.

Los ejemplos descritos anteriormente muestran que un transportador puede hacer atravesar un único compuesto (como el transporte mediado pasivo de glucosa en el eritrocito), constituyendo un sistema uniporte, o dos (como la ATPasa Na^+/K^+ , o el sistema de transporte mediado activo secundario de glucosa/galactosa en el enterocito), por lo que recibe la denominación de biporte. En el caso de biporte, ambas biomoléculas pueden ser transportadas en el mismo sentido (el transportador de glucosa/galactosa y Na^+ del enterocito) y se denomina simporte o, como en el caso de la bomba de Na^+/K^+ , en sentido contrario, antiporte. Aparte de

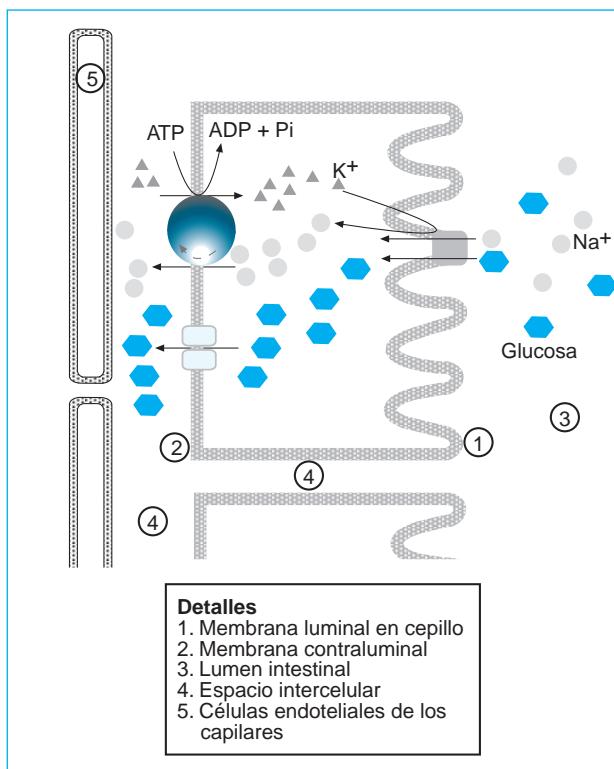


Figura 10-7. Transporte activo secundario de monosacáridos, como glucosa y galactosa, en el enterocito.

ello, si la sustancia transportada tiene carga, su paso por la membrana crea no sólo un potencial químico sino también uno eléctrico: la *ATPasa Na⁺/K⁺* descrita anteriormente, que introduce dos iones potasio y saca tres iones sodio, empobrece la célula en cargas positivas; es un típico ejemplo de transporte electrógeno. Si el intercambio de cationes fuera 1:1, no se crearía el desequilibrio iónico y el sistema sería *no electrógeno* (Recuadro 10-1).

10.4 OTROS TIPOS DE TRANSPORTE

Hay otros mecanismos de transporte a través de membranas biológicas que, a veces, solventan problemas importantes. Uno de ellos es la endocitosis, de la que existen dos variedades, la inespecífica o constitutiva y la específica o mediada por receptores. Ambas se desencadenan a consecuencia de invaginaciones que sufren determinadas zonas de las membranas, fundamentalmente de la plasmática, que se pliegan sobre sí mismas acotando los materiales que están dentro de esa zona invaginada hasta estrangularse, acabando por desprenderse, en forma de vacuola, esa parte estrangulada de la membrana; dicha vacuola, denominada endocítica, queda

dentro del espacio interior delimitado por la membrana de la que proviene, por lo que el resultado es que el líquido inicialmente extracelular secuestrado durante el proceso, y todos los materiales disueltos en él, resulta ingerido.

La diferencia entre ambos tipos de endocitosis es que la inespecífica se produce de forma espontánea, por lo que introduce, de forma totalmente aleatoria, los materiales de todo tipo que han quedado atrapados por la invaginación de la membrana. A este tipo de endocitosis también se la llama constitutiva, porque es una característica celular nativa. Todas las células efectúan este fenómeno, aunque unas más que otras; el macrófago es uno de los tipos celulares en los que, por este mecanismo, se trasiegan más materiales: es capaz de ingerir hasta un 25% de su volumen en una hora. Evidentemente, para que no se acabe colapsando la célula, tiene que tener lugar otro complementario y asimétrico, denominado exocitosis.

Por el contrario, la específica o endocitosis mediada por receptor se desencadena de manera diferente. Un buen ejemplo es el de la captación de las partículas lipoproteínicas LDL por células periféricas, que está explicado en el Capítulo 15.

Otro tipo de transporte es la translocación de grupos, en el que no se hace atravesar por la membrana a una molécula entera sino sólo una fracción, más o menos grande, de la misma; el transportador, en este caso, modifica a su sustrato cuando interacciona con él, y la especie química que llega al otro lado es diferente de la inicial. Una visión general del proceso se representa en la Figura 10-8. Un ejemplo de este

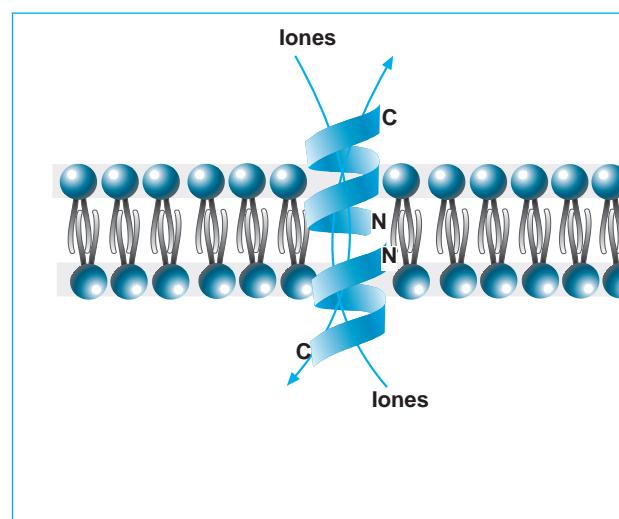


Figura 10-8. Transporte por translocación de grupo. Sistema de la fosfotransferasa para la glucosa en *E. coli*. La enzima I es soluble y transfiere el fosfato procedente del fosfoenolpiruvato a la enzima Hpr. El fosfato prosigue su transferencia mediante la enzima III. La enzima II capta la glucosa del exterior y forma un complejo con la enzima III y el fosfato, produciendo la glucosa-6-fosfato, que pasa al interior de la célula bacteriana.

Recuadro 10-1. LOS IONÓFOROS

Un caso interesante de transporte a través de membranas es el de los ionóforos. El mantenimiento de gradientes de concentración de iones a ambos lados de las membranas biológicas es muy importante para el funcionamiento celular. En ellas hay abundancia de *ATPasas* (de Na^+/K^+ , de H^+ , de Ca^{+2} , etc.) en cuyo mantenimiento se gastan notables cantidades de energía metabólica. Por eso, sería especialmente dañina para la célula la existencia de sustancias que fueran capaces de dar al traste con esos gradientes tan vitales. Ello sucede con ciertos compuestos naturales, llamados ionóforos. Entre ellos destacan algunos antibióticos de origen bacteriano que, con su presencia en la membrana, sobre todo la plasmática, facilitan los movimientos a favor de gradiente de iones inorgánicos, tanto monovalentes como divalentes, hasta conseguir que sus concentraciones se igualen a ambos lados de la misma. Normalmente se trata de sustancias de pequeño tamaño, fundamentalmente de carácter peptídico (Tabla 10-1).

Los ionóforos se pueden clasificar, por su forma de actuar y su grado de especificidad, en dos subgrupos: los transportadores móviles, que son muy específicos y se difunden por el interior de la membrana con el ion que captan, y los ionóforos estrictos, menos específicos, que se ubican en un punto fijo de la membrana, formando una especie de poro o canal a través del cual determinados iones fluyen libremente, a favor de gradiente. Su forma de actuar se puede ilustrar con un ejemplo de cada tipo.

La valinomicina es un trímero cíclico, compuesto de tres tetrapéptidos de secuencia L-lac-L-val-D-hidroxisovalerato-D-val, con un total de 6 aminoácidos y 6 ácidos orgánicos (Fig. 10-9); es un transportador móvil típico. Tiene un exterior hidrofóbico, por lo que puede ubicarse perfectamente en la bicapa lipídica, que aísla un centro

Tabla 10-1. Ionóforos más conocidos

Nombre	Tipo	Especificidad iónica	Acción
A 23187	Transportador móvil	$\text{Ca}^{+2}/2\text{H}^+$	Antiporte (electroneutro)
Alametecina	Ionóforo estricto	K^+, Rb^+	Forma canales
Gramicidina	Ionóforo estricto	$\text{H}^+, \text{Na}^+, \text{K}^+, \text{Rb}^+$	Forma canales
Nigericina	Transportador móvil	K^+/ H^+	Antiporte (electroneutro)
Nonactina	Transportador móvil	$\text{NH}_4^+, \text{K}^+$	Uniporte (electrógeno)
Valinomicina	Transportador móvil	K^+ o Rb^+	Uniporte (electrógeno)

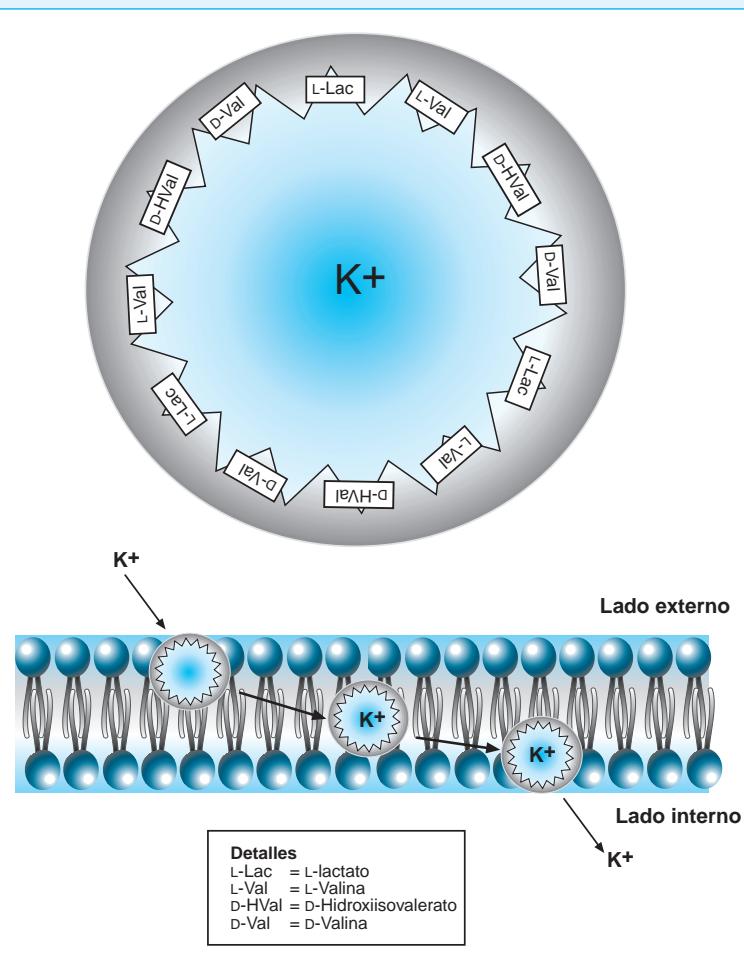


Figura 10-9. Esquema del ionóforo cíclico trimérico valinomicina, con cada oligómero constituido por 4 compuestos, de modo que las zonas hidrofóbicas se sitúan hacia el exterior y las hidrofílicas hacia el interior, favoreciendo el transporte de los iones de potasio.

hidrofílico captador de cationes, muy específico para el K^+ (es 1000 veces más afín por él que por el Na^+). Al contactar con el catión lo capta en la parte de la membrana donde su concentración es mayor y, actuando como un transportador pasivo uniporte y electrógeno, se difunde con él por la membrana, depositándolo en el otro borde, hasta que las concentraciones se igualan, ya que un ionóforo nunca concentra su catión en un lado, sino que iguala sus concentraciones a ambos lados.

La gramicidina sería un ejemplo de ionóforo estricto. Cuando se encuentran en concentración adecuada, dos moléculas del ionóforo se disponen (Fig. 10-10) de tal forma, que dan lugar a un poro, de unos 0.4 nm de diámetro, que atraviesa la membrana. Mientras el poro permanezca, podrán difundir, a favor del gradiente de concentración, todos los cationes que tengan un tamaño menor. De ahí su menor grado de especificidad; de hecho, la gramicidina anula gradientes de H^+ , Na^+ , K^+ y Rb^+ . Estos canales tienen una vida media

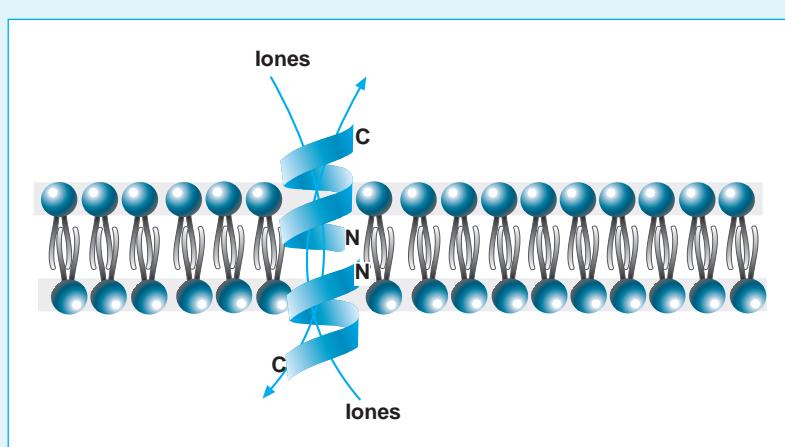


Figura 10-10. El ionóforo gramicidina D. Forma un dímero tipo cola-cola, que hace de poro a través de la membrana, capaz de abrirse y cerrarse adecuadamente.

corta, del orden de 1 s, pero pueden volverse a formar, varias veces, al estar en equilibrio con los monómeros libres, por lo que resultan 1000 veces más eficaces que los transportadores móviles, permitiendo la difusión de hasta 10^7 iones/s, a favor de gradiente. Además, por su carácter fijo en la membrana,

para su funcionamiento no dependen tanto de la fluidez de la misma como los transportadores móviles.

Conviene señalar que los antibióticos ionóforos, como los citados, están resultando de una utilidad extraordinaria en los estudios de transporte iónico a través de membranas.

tipo de transporte es el de la entrada de glucosa a muchas bacterias, en el transcurso de cuyo proceso la glucosa es fosforilada a Glucosa 6P; el objetivo es asegurarse de que, una vez dentro, ese nutriente ya no saldrá jamás de la bacteria, porque los compuestos fosforilados no pueden atravesar membranas. Evidentemente, en ese proceso se gasta energía metabólica, puesto que el donador de los fosfatos que esterifican a glucosa es ATP, pero no se le puede considerar, técnicamente, un transporte activo porque el sustrato ha sido transformado durante el proceso en otra especie; por tanto, no se puede hablar de gradiente de concentración de una determinada sustancia química. A pesar de ello, consigue lo mismo que un verdadero transporte activo, concentrar un

compuesto a un lado de la membrana, con una ventaja: lo que queda dentro es un compuesto metabólicamente más utilizable por la célula.

En los mamíferos, hay un ejemplo muy destacado de este tipo de sistema, el llamado ciclo del γ -glutamilo que, a expensas del glutatión compuesto que abunda en esas células, consigue concentrar aminoácidos en el interior de las células tubulares renales, contribuyendo, de forma decisiva, a la recuperación de esos valiosos nutrientes, con la única excepción de prolina e hidroxiprolina, evitando que sean excretados por la orina; el proceso tiene un coste alto: tres moléculas de ATP se hidrolizan a ADP y fosfato por cada aminoácido recuperado.

RESUMEN

- Todas las membranas biológicas responden a un mismo modelo, el de mosaico fluido, debido a que se trata de una bicapa lipídica, en cuyo interior se ubican proteínas, llamadas intrínsecas.
- La mayoría de las membranas no son meras fronteras estáticas que separan compartimentos estancos, sino que cumplen otras funciones. Para poder conseguir dichas funciones, hay un control genético del tanto por ciento de cada uno de sus componentes, tanto lípidos como proteínas.
- Los lípidos son fundamentalmente fosfolípidos. El que predomine en una membrana un tipo u otro de fosfolípido también está regulado genéticamente, para lograr la estructura más adecuada a la función que debe cumplir. También suele haber colesterol en las membranas, y su efecto es amortiguar la influencia de la temperatura sobre la fluidez de las mismas.
- Las proteínas intrínsecas de membrana suelen tener un elevado porcentaje de carácter hidrofóbico. No sólo tienen que cumplir funciones estructurales; muchas de ellas son proteínas implicadas en funciones de las membranas; otras son receptores hormonales o antígenos de histocompatibilidad implicados en la contención de la respuesta inmunitaria. Finalmente, algunas son transportadoras de moléculas que deben atravesar las membranas.
- Las membranas no son totalmente impermeables; algunas sustancias deben tener entrada o salida de las mismas. Hay diversos sistemas de transporte a través de membrana; uno, minoritario, es un mero fenómeno físico, la difusión, que sólo utilizan gases o moléculas de pequeño tamaño y carácter hidrofóbico.
- La mayor parte de las moléculas que atraviesan las membranas lo hacen gracias a dos sistemas de transporte mediado, uno exergónico, el pasivo, y otro endergónico, el activo, que sólo puede funcionar acoplado a un proceso suficientemente exergónico como para financiarlo energéticamente. Los sistemas pasivos no tienen carácter vectorial: pueden funcionar en los dos sentidos, sólo con un fin, que se alcance el equilibrio de materia, lo que se consigue cuando se hace desaparecer un gradiente de concentración. Sin embargo, desde el punto de vista cinético ambos son indistinguibles: presenta cinética hiperbólica.
- Los transportes activos son de concentración y tienen carácter vectorial: sólo funcionan en un sentido determinado. Hay dos subgrupos, definidos en función de su dependencia, directa o indirecta, de la energía metabólica: primarios y secundarios.
- Hay otros tipos de transporte a través de membranas: endocitosis, exocitosis, translocación de grupos. Casi todos ellos, sin embargo, son consumidores de energía metabólica.

EVALUACIÓN

1. (A). Membranas biológicas.

- a. Las proteínas fibrosas son las que tienen la estructura más adecuada para participar como proteínas intrínsecas en las membranas biológicas.
- b. La bicapa lipídica, que es la base para edificar una membrana, está formada por fosfolípidos y por ésteres de colesterol.
- c. Cada tipo de membrana biológica tiene predeterminado, genéticamente, el porcentaje de participación que cada gran grupo de componentes, lípidos y proteínas, ha de presentar en ella.
- d. Se pueden eliminar las proteínas intrínsecas de una membrana biológica sin que ello implique merma alguna en la funcionalidad de la misma.
- e. Hay más de una propuesta correcta entre las anteriores.

2. (B). Sistemas de transporte a través de membranas.

- 1. En principio, cuanto más pequeña y más hidrofóbica sea una molécula, tanto más fácil será el que pueda atravesar una membrana por difusión simple.
- 2. Los sistemas de transporte mediado pasivo no se diferencian, desde el punto de vista cinético, de los de transporte mediado activo.
- 3. Los sistemas de transporte mediado activo tienen carácter vectorial.
- 4. Los sistemas de translocación de grupos no le suponen gasto de energía a la célula en la que operan.

a b c d e

3. (C). El que una membrana tenga más o menos colesterol repercutirá más en la acción de un ionóforo como la valinomicina, del tipo de transportador móvil, que en la de la gramicidina A, ionóforo estricto PORQUE los ionóforos estrictos son mucho más específicos en su acción que los transportadores móviles.

a b c d e

4. (B). Membranas y transporte.

- 1. La velocidad de paso por difusión de un sustrato a través de una membrana es función lineal del gradiente de concentración a ambos lados de la misma.
- 2. Un mismo transportador mediado pasivo sirve para pasar un sustrato a través de una membrana de fuera a dentro, o viceversa, pero siempre a favor del gradiente de concentración.
- 3. ATPasa Na^+/K^+ es un transportador activo, primario, biporte, antiporte, electrogénico, de carácter vectorial.

4. La diferencia fundamental entre los transportadores mediados pasivos y los activos es de tipo cinético: los primeros tienen cinética hiperbólica, mientras los segundos la tienen sigmoidal.

a b c d e

5. (C). El ciclo del γ -glutamilo es un proceso que permite captar a las células en las que funciona Pro e Hidroxipro de manera bastante ventajosa PORQUE es una vía que permite concentrar aminoácidos sin gasto alguno de ATP celular.

a b c d e

6. (C). La secreción de HCl al lumen estomacal es un fenómeno fuertemente exergónico PORQUE durante ese proceso la $[\text{H}^+]$ se diluye más de un millón de veces.

a b c d e

7. (B). Transporte a través de las membranas biológicas.

- 1. La cinética de ATPasa Na^+/K^+ es sigmoidal.
- 2. El ciclo del γ -glutamilo es un ejemplo típico de translocación de grupos.
- 3. Los sistemas de transporte activo, si la célula carece de energía metabólica para financiarlos, pueden seguir funcionando como transportadores pasivos.
- 4. La secreción gástrica de H^+ es un caso espectacular de transporte activo, llegando a concentrar H^+ más de un millón de veces en el lumen gástrico.

a b c d e

8. (B). Membranas biológicas.

- 1. El ácido graso que figura exactamente en cada posición de cada molécula lipídica de cada tipo de membrana, es una característica determinada genéticamente.
- 2. La presencia de colesterol en una membrana hace que la fluidez de la misma sea menos dependiente de la temperatura del medio.
- 3. No hay ninguna restricción que limite los movimientos que cualquiera de los componentes de una membrana puede efectuar dentro de ese mosaico fluido.
- 4. Las diferentes membranas (nuclear, plasmática, etc.) de un mismo tejido (hígado, músculo, etc.) tienen composiciones diferentes, en lípidos y proteínas, adecuadas para su función.

a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Chin CN, von Heijne G, de Gier JW: Membrane proteins: shaping up. *TiBS* 2002; 27: 231-234.
- Goñi FM: Integral membrane proteins and erythrocyte membrane stability. *TiBS* 2002; 27: 6-7.
- Karpen JM, Ruiz ML: Ion channels: does each subunit do something on its own? *TiBS* 2002; 27: 402.
- Schultz J: HTTM, a horizontally transferred transmembrane domain. *TiBS* 2004; 29: 4-7.
- Paschal BM: Translocation through the nuclear pore complex. *TiBS* 2002; 27: 593-596.
- Storch J, Kleinfeld AM: The lipid structure of biological membranes. *TiBS* 1985; 10: 418-421.
- Torres J, Stevens TJ, Samsó M: Membrane proteins: the ‘Wild West’ of structural biology. *TiBS* 2003; 28: 137-144.
- Veenhoff LM, Heuberger EHML, Poolman B: Quaternary structure and function of transport proteins. *TiBS* 2002; 27: 242-249.
- Wipf D, Ludewig U, Tegeder M *et al*: Conservation of amino acid transporters in fungi, plants and animals. *TiBS* 2002; 27: 139-147.

SECCIÓN III

METABOLISMO ENERGÉTICO

- Capítulo 11:** **Nutrición, absorción y transporte**
- Capítulo 12:** **Mecanismos hormonales de regulación metabólica.**
La transducción de señales
- Capítulo 13:** **Obtención y aprovechamiento de la energía**
- Capítulo 14:** **Metabolismo de los hidratos de carbono**
- Capítulo 15:** **Metabolismo de los lípidos y las lipoproteínas**
- Capítulo 16:** **Metabolismo nitrogenado**
- Capítulo 17:** **Regulación e integración metabólica**

NUTRICIÓN, ABSORCIÓN Y TRANSPORTE

11.1 CONSIDERACIONES ENERGÉTICAS Y MATERIALES

El ser humano necesita el aporte continuo de una serie de sustancias que le van a permitir el normal desarrollo y funcionamiento de sus órganos y tejidos. Las funciones de los nutrientes son varias:

- Energética, proporcionando la energía necesaria para la actividad vital.
- Material, como fuente de materia (átomos) para construir las propias biomoléculas.
- Catalítica (vitaminas, cofactores, iones), para favorecer las conversiones metabólicas.

11.1.1 Funciones energéticas de los nutrientes

De acuerdo con la afirmación del profesor Lehninger de que: «No hay vitalismo ni magia negra capaces de hacer que los seres vivos puedan evadirse de la naturaleza inexorable de los principios termodinámicos», en el cuerpo humano se ha de cumplir que:

$$\text{Energía entrante} = \text{Energía saliente} \pm \text{Energía como biomasa}$$

Por tanto, en un espacio temporal en el que no haya variación de biomasa, en situación de equilibrio estacionario, la energía proporcionada por los nutrientes ha de equivaler a la energía utilizada, suma del metabolismo basal y la actividad física o metabolismo energético (Fig. 11-1).

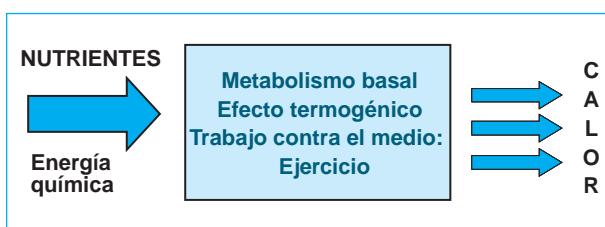


Figura 11-1. Flujo energético general en los seres humanos. La energía inicial de los nutrientes, en forma de energía libre de combustión, tras las transformaciones que sustentan la actividad vital, finaliza degradada en forma de calor.

El destino metabólico final de los hidratos de carbono y de los lípidos es su transformación en CO_2 y H_2O . La energía máxima utilizable que se puede obtener en el proceso equivale al cambio de energía libre de combustión, expresado en kilocalorías o kilojulios por gramo, por mol o por litro de oxígeno consumido. De las ecuaciones metabólicas correspondientes a sus oxidaciones, como las consideradas en el estudio de sus respectivos catabolismos, se puede conocer por mol de metabolito los moles de oxígeno consumido y los de dióxido de carbono producidos. De ahí, se define el concepto de *cociente respiratorio* como la relación existente entre el volumen de dióxido de carbono producido respecto al de oxígeno consumido en el proceso. En el caso de las proteínas, ha de tenerse en cuenta que el cambio de energía libre no equivale al del proceso de combustión, ya que el destino metabólico final del nitrógeno no es la formación de óxidos de nitrógeno, sino su eliminación en forma de urea. Por ello, el cambio de energía libre del catabolismo oxidativo de los aminoácidos y las proteínas, es de menor valor absoluto que el correspondiente al cambio de energía libre de sus correspondientes combustiones.

Teniendo presente todo ello, así como la composición media de los diferentes tipos de nutrientes y su diferente susceptibilidad de digestión y absorción, se obtienen cifras de *rendimiento energético* como las resumidas en la Tabla 11-1. Hay que hacer notar que, por gramo de nutriente, los lípidos

Tabla 11-1. Rendimiento energético de los nutrientes

	Hidratos de carbono	Lípidos	Proteínas
Cociente respiratorio	1	0.7	0.8
kcal/g	4	9	4
kcal/L O_2	5	4.5	4.5
Moles ATP/g	0.17	0.39	0.19
Moles ATP/L O_2	0.24	0.19	0.17

proporcionan más energía que los hidratos de carbono o las proteínas. Sin embargo, si la comparación se hace por litro de oxígeno consumido, los hidratos de carbono rinden más que los lípidos.

Por tanto, desde un punto de vista estrictamente energético, los diferentes nutrientes son sustituibles entre sí, teniendo en cuenta la energía que proporcionan: glúcidos (4 kcal/g; 5 kcal/L O₂); lípidos (9 kcal/g; 4.5 kcal/L O₂), y proteínas (4 kcal/g; 4.5 kcal/L O₂).

Debido al necesario cumplimiento del primer principio de la termodinámica, el metabolismo energético de una persona, durante un cierto tiempo, se podría evaluar mediante medidas directas, usando calorímetros adecuados, ya que el destino final de las formas de energía es su transformación en calor. Aunque este tipo de técnicas, con instrumentos específicos, se pueden utilizar, hay otra alternativa más simple, que se basa en los valores, extrapolados a 24 horas, del oxígeno consumido, el dióxido de carbono producido y el nitrógeno metabolizado (urea en la orina), teniendo en cuenta que a 1 g de nitrógeno le corresponde una media de 6.25 g de proteínas catabolizadas. A partir de los respectivos cocientes respiratorios, mediante cálculos sencillos, se puede establecer el balance energético global y el particular para cada tipo de nutriente. Otro sistema alternativo de evaluación más simple sólo considera el consumo de oxígeno y la producción de dióxido de carbono, y con el valor deducido del correspondiente cociente respiratorio se construyen tablas que establecen la correspondencia adecuada con la energía proporcionada por cada litro de oxígeno consumido. Pero más sencillo es partir del supuesto de que en condiciones normales fisiológicas y alimentarias, en las que el metabolismo energético proteico significa un 15% del total, cada litro de oxígeno consumido supone 4.82 kcal. En este caso, el único valor experimental que se ha de conocer es el del consumo de oxígeno en 24 horas.

En cualquier caso, hemos de tener en cuenta que el metabolismo energético total consta de dos sumandos, *metabolismo basal* y *actividad física*. Los procedimientos de cálculo descritos son aplicables, tanto al metabolismo energético total, como al basal. El metabolismo basal corresponde a la situación de descanso total y representa la energía precisa para mantener nuestras células, órganos y tejidos funcionales. Su cuantía depende de numerosos factores (sexo, edad, superficie corporal) y, de un modo estadísticamente medio, se puede evaluar con diferentes ecuaciones, entre ellas, las fórmulas de Harris y Benedict:

$$\text{Varones (kcal/día)}: 66.4730 + (13.751 \cdot \text{peso en kg}) + (5.0033 \cdot \text{talla en cm}) - (6.755 \cdot \text{edad en años})$$

$$\text{Hembras (kcal/día)}: 655.0955 + (9.463 \cdot \text{peso en kg}) + (1.8496 \cdot \text{talla en cm}) - (4.6756 \cdot \text{edad en años})$$

Respecto al componente de actividad física, en general, la realización de una tarea que significa una determinada cuantía energética implica la eliminación calórica adicional de cuatro veces esa cantidad, es decir, que al ser el rendimiento energético del 20%, la compensación ha de ser una ingestión energética quíntuple. Existen numerosas tablas que nos proporcionan valores medios energéticos de compensación, que se corresponden con los diferentes tipos de actividades posibles. Para un varón normal, con un metabolismo basal de 1770 kcal/día, es decir, 1.20 kcal/minuto, las cifras para algunas actividades, expresadas en kcal/minuto (incluido el metabolismo basal), son: trabajo de oficina (1.8), barrer el jardín (2.4), vestirse (3.6), caminar rápido (4.5), serrar troncos (5.4), trepar montañas (20).

11.1.2 Funciones materiales

Los nutrientes, tras su digestión, se convierten en unidades más simples, que una vez absorbidas y transportadas pueden proporcionar energía catabólica, pero también se usan como punto de partida de la construcción de las biomoléculas corporales. En varios capítulos, del 13 al 17, se exponen los diferentes aspectos de los procesos metabólicos de los azúcares, lípidos y aminoácidos, y las características de su interconversión. Resumamos ahora alguno de los puntos más relacionados con el papel material de los nutrientes.

Hidratos de carbono. Entre las ventajas de su uso están su fácil disponibilidad y metabolismo, su papel precursor de lípidos o aminoácidos, y su capacidad de proporcionar energía en condiciones anaerobias. Su exceso puede almacenarse como glucógeno o como grasas. Los niveles de glucemia han de mantenerse, entre otras razones porque algunos órganos usan la glucosa como nutriente preferente y, además, porque los productos metabólicos de los hidratos de carbono son imprescindibles para las reacciones anfibólicas, para reponer los niveles de intermedios del ciclo de los ácidos tricarboxílicos. Por ello, la presencia de suficiente cantidad de hidratos de carbono es esencial en una dieta correcta. También hay que destacar que en la dieta se encuentran hidratos de carbono no digeribles (fibra), sin valor energético ni material, pero de gran utilidad fisiológica por su capacidad de absorber agua, aumentar el volumen de las heces y prevenir ciertas enfermedades, como el cáncer de colon o una colesterolemia elevada.

Lípidos. Desde el punto de vista material, como para los humanos los fragmentos bicarbonados no son glucogénicos, los ácidos grasos no pueden sustituir a los azúcares y su exceso ha de almacenarse como depósito graso. Su participación en la dieta es necesaria, ya que algunos de ellos,

importantes en sí mismos o como precursores metabólicos, tienen carácter esencial; por ejemplo, los ácidos grasos poliinsaturados. Su catabolismo energético es aerobio, por lo que si las disponibilidades catabólicas son grandes y las fases aerobias (ciclo de Krebs, acceso de oxígeno) son limitantes, se acumularán los intermedios metabólicos cetoacídicos, lo que se conoce como *cetosis*.

Proteínas. El papel de las proteínas en la dieta es más plástico que energético, ya que la existencia de aminoácidos cetogénicos y glucogénicos hace que sean unos valiosos precursores metabólicos. Por otra parte, el que un cierto número de aminoácidos sea esencial hace necesaria la presencia de una mínima cantidad de proteínas, de suficiente valor biológico, en la dieta. Entonces, ¿sería conveniente una alimentación basada casi exclusivamente en las proteínas? Todo lo contrario, sería muy peligrosa por diversas razones. Entre ellas, no es la menos importante la de que en el hígado es donde se cataboliza la mayor parte de los aminoácidos, pero el acceso fisiológico de oxígeno a este órgano es limitado, por lo que su capacidad catabólica aerobia también lo es, y al ser la cantidad de energía que puede obtenerse muy limitada, inferior a la correspondiente al metabolismo basal, se produciría una obligada acumulación de cetoácidos, con la peligrosa cetosis correspondiente.

Una dieta equilibrada de los principales nutrientes, desde el punto de vista, tanto energético, como material, podría tener la siguiente composición: hidratos de carbono: 55-60% de la energía (350 g); lípidos: 25-30% (75 g); proteínas: 15% (75 g). Los ácidos grasos de los lípidos deberían distribuirse homogéneamente entre saturados, monoinsaturados y poliinsaturados. Las proteínas de mayor valor biológico son las animales, pero, en el caso de dietas más vegetarianas, su déficit en aminoácidos esenciales puede compensarse con mezclas de diferentes procedencias (cereales, legumbres) y, sobre todo, con las proteínas de la leche y de los huevos. En todo caso, los requerimientos individuales dependen de factores como el sexo, el peso, la edad y otras circunstancias particulares personales (tipo de actividad, embarazo, convalecencia, condicionamientos genéticos y neuroendocrinos, entre otros). Por ejemplo, es evidente que los recién nacidos necesitan un mayor aporte nitrogenado que los niños o adolescentes, y éstos uno mayor que los adultos.

11.1.3 Funciones catalíticas

En una dieta equilibrada también ha de estar presente otra serie de importantes componentes, con casi nulo papel cuantitativo desde el punto de vista energético o como precursores materiales. Se trata de los iones, oligoelementos y vita-

minas, no sintetizables en nuestro organismo, y cuya participación es esencial para el buen funcionamiento de los sistemas catalíticos e informativos celulares. De los iones ya se ha tratado en el Capítulo 3, y de las vitaminas y coenzimas, en el Capítulo 9. Su déficit puede provocar muy variados procesos patológicos.

11.2 INGESTIÓN Y TRANSFORMACIONES POSTERIORES DE LOS ALIMENTOS

No todas las biomoléculas ingeridas en la mezcla de los diferentes alimentos de la dieta pueden ser absorbidas directamente por las células de la mucosa intestinal, ya que éstas sólo tienen capacidad para captar moléculas de bajo peso molecular, siendo poco capaces de absorber materiales de tipo polimérico, como proteínas, ácidos nucleicos o polisacáridos. Por ello, la mayor parte de los componentes poliméricos de la dieta han de transformarse en compuestos más sencillos, que puedan ser transportados a través de los enterocitos.

Las proteínas (véase el Cap. 7) se deben transformar en sus componentes unitarios, los aminoácidos, compuestos que son absorbibles por el intestino. Las proteínas que no se pueden degradar no pueden ser absorbidas y aparecen en las heces, siendo generalmente esta fracción fecal una pequeña proporción del total de proteínas ingeridas. Las proteínas de los alimentos, aunque químicamente semejantes, presentan una gran variedad de especies diferentes, relacionadas con el origen de los alimentos. En los alimentos, también existen aminoácidos libres que pueden ser absorbidos sin ninguna modificación, si bien su aporte nitrogenado en relación con el de las proteínas es prácticamente insignificante, así como algún aporte de aminoácidos no proteicos.

Los hidratos de carbono sólo pueden absorberse en su forma monomérica. Los monosacáridos (D-glucosa, D-fructosa y D-galactosa, fundamentalmente) constituyen un porcentaje pequeño de los azúcares presentes en los alimentos, siendo mayoritarios en los alimentos los polímeros de glucosa, como el almidón (compuesto por amilosa y amilopectina; véase el Cap. 5), de origen vegetal, y el glucógeno, de estructura muy parecida a la amilopectina, aunque con un mayor grado de ramificación, que es de origen animal. Los disacáridos sacarosa y lactosa, abundantes en determinados alimentos (la lactosa, por ejemplo, es el azúcar de la leche) deben también transformarse en monosacáridos antes de poder ser absorbidos. Aparte de éstos, hay en los alimentos de origen vegetal una serie de hidratos de carbono (celulosa, hemicelulosa, pectinas, etc.) que no pueden ser degradados por el aparato digestivo humano y que se excretan en las heces, constituyendo la fracción de hidratos de carbono conocida como fibra vegetal.

Los lípidos (véase el Cap. 6) forman un grupo complejo de nutrientes, en el que predominan los triacilgliceroles, que constituyen alrededor del 90% de los lípidos de la mayor parte de los alimentos. Los fosfolípidos, el colesterol y los ésteres de colesterol, los ácidos grasos y las vitaminas liposolubles completan la fracción lipídica de los alimentos. La insolubilidad de los lípidos en disoluciones acuosas supone una dificultad para su degradación y absorción, siendo necesaria la presencia de la secreción biliar, de carácter anfipático, para la degradación de los triacilgliceroles, fosfolípidos y ésteres de colesterol y, sobre todo, para la posterior absorción intestinal de la fracción lipídica de los alimentos digeridos.

Asimismo, es interesante destacar el hecho de que el ser humano necesita, forzosamente, tomar en la dieta algunos compuestos para los que carece de rutas biosintéticas. El número de estos nutrientes, que se denominan esenciales precisamente porque su presencia es fundamental para la supervivencia humana, no es demasiado amplio, pero incluye aproximadamente la mitad de los aminoácidos proteicos, algunos ácidos grasos poliinsaturados, vitaminas y minerales. Cualquier otro compuesto no esencial puede estar ausente de la dieta, siempre que en la misma haya cantidades adecuadas de sus precursores metabólicos.

11.2.1 Digestión

Consideraciones generales

Dado su mayoritario carácter polimérico e inabsorbible, una alta proporción de los compuestos ingeridos debe sufrir en el tracto gastrointestinal reacciones de transformación, que consisten en la conversión de esas biomoléculas de tipo polimérico en compuestos monoméricos más sencillos, susceptibles de ser transportados hacia la sangre a través de las células intestinales. Estas reacciones de degradación son procesos hidrolíticos exergónicos que tienen lugar extracelularmente en el lumen del aparato digestivo, y que se conocen en conjunto con el nombre de digestión. El papel más importante de la digestión lo desempeña una serie de enzimas digestivas que catalizan la degradación de los materiales poliméricos a monoméricos. Estas enzimas se sintetizan en células y glándulas especializadas, en la mayoría de los casos como precursores inactivos denominados zimógenos digestivos, que se activan en el momento y lugar adecuados del aparato digestivo. En la digestión participan también componentes no enzimáticos, presentes en las secreciones de diferentes glándulas digestivas, que suministran los iones y el pH adecuados para la actuación de las enzimas digestivas, o que ayudan, como en el caso de la secreción biliar, a la solubilidad de los lípidos, favoreciendo su digestión y absorción (Fig. 11-2).

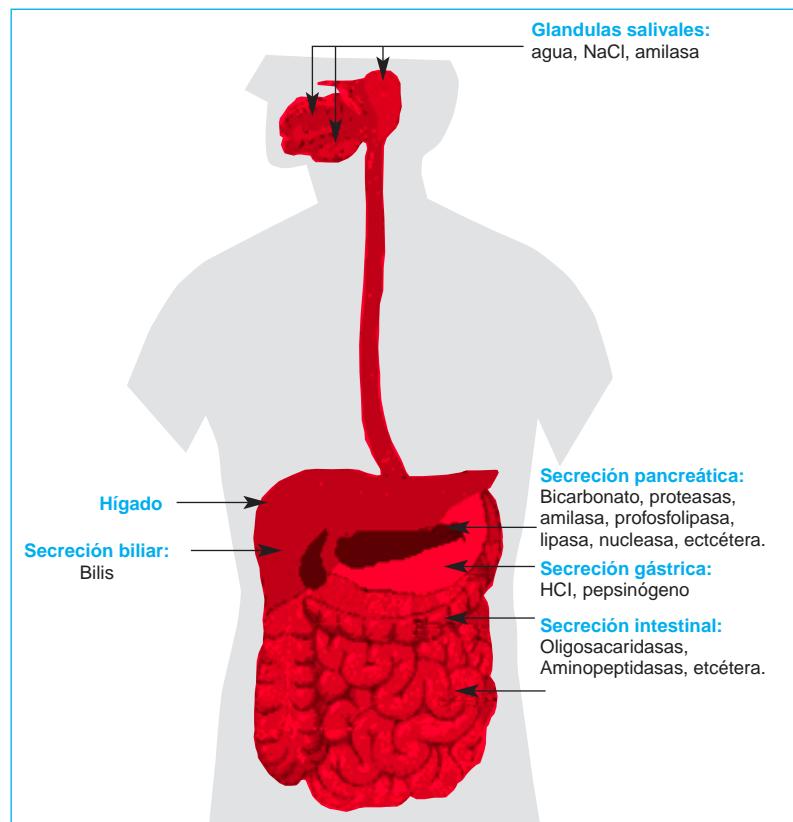


Figura 11-2. Sistema digestivo y secreciones digestivas en los seres humanos.

La digestión no es únicamente un proceso químico, sino que también forman parte de ella una serie de procesos físicos (la masticación, o trituración de los alimentos; los movimientos peristálticos, o de contracción del tubo digestivo) que facilitan la degradación digestiva de las biomoléculas.

El tránsito de los alimentos por el tubo digestivo y la liberación coordinada de las diferentes secreciones digestivas están regulados por los sistemas nervioso y endocrino, lo que permite ajustar el tiempo de permanencia del bolo alimenticio en cada parte del tubo digestivo, con el aporte de las secreciones digestivas en el tiempo y la cantidad adecuados para el proceso.

Aunque la digestión de los distintos componentes de la dieta tiene lugar de forma simultánea en los diferentes segmentos del tubo digestivo, se expondrá de forma separada la digestión de los diferentes principios inmediatos de los alimentos.

Digestión de las proteínas

La degradación de las proteínas la llevan a cabo, de forma sinérgica, una serie de enzimas hidrolasas, las *proteasas*, capaces de catalizar la ruptura de los enlaces peptídicos por la acción de una molécula de agua. La ruptura de estos enlaces lleva a la transformación de la cadena polipeptídica en una mezcla de los diferentes aminoácidos proteicos.

Esta ruptura, sin embargo, no se produce de manera simultánea: en primer lugar, actúa una serie de *endopeptidasas* de especificidades diferentes, cada una de las cuales rompe un determinado tipo de enlace peptídico interno, transformando las largas cadenas peptídicas en una mezcla de cadenas menores, lo que aumenta la proporción relativa de enlaces peptídicos terminales. Luego, estos enlaces extremos son rotos por *exopeptidasas*, que hidrolizan el enlace peptídico del extremo amino terminal (*aminopeptidasas*), o del carboxilo terminal (*carboxipeptidasas*).

La degradación de las proteínas comienza en el lumen estomacal, gracias a la acción de la *pepsina*, endoproteasa ácida sintetizada en forma de zimógeno, *pepsinógeno*, por las células de la mucosa gástrica. Dicho zimógeno se activa por la acción del extremadamente ácido del lumen (cerca de 1), que también favorece la degradación de las proteínas de la dieta, al provocar su desnaturalización. El resultado es la aparición de una mezcla de péptidos (peptonas) y una pequeña porción de aminoácidos libres.

La degradación total de las proteínas, sin embargo, no tiene lugar hasta que el bolo alimenticio llega al lumen del duodeno, donde actúa una serie de *endopeptidasas* (*tripsina*, *quimotripsina* y *elastasa*), cada una de ellas provista de una especificidad característica y diferente del de las otras

hacia los enlaces peptídicos, basada en el tipo de residuos aminoacídicos que participan en ellos. También participan *amino* y *carboxipeptidasas*, que atacan los enlaces peptídicos exteriores. Las *endopeptidasas* y las *carboxipeptidasas A* y *B* también se sintetizan como zimógenos en el páncreas, y se vierten al lumen duodenal dentro de la secreción llamada jugo pancreático, que llega allí puntualmente en cada comida. En cuanto ese vertido ocurre, una parte del tripsinógeno se activa por una proteólisis parcial catalizada por una proteasa específica, *enteropeptidasa*, sintetizada por las células de la mucosa intestinal y secretada también al lumen. Una vez activado a *tripsina*, ésta es la enzima que cataliza la activación del resto del tripsinógeno y la de los otros zimógenos, dando lugar a la formación de *quimotripsina*, *elastasa* y *carboxipeptidasas A* y *B*, activas y listas para actuar. Para completar la digestión, los enterocitos de la mucosa duodenal poseen una *leucina aminopeptidasa*, que se encuentra anclada en la cara externa de la membrana luminal del enterocito y que concluye la ruptura de los oligopeptidos producidos por las *endopeptidasas*. Asimismo, en esas membranas luminales enterocíticas también hay dipeptidasas que degradan los dipéptidos. El resultado son aminoácidos libres que pueden ser absorbidos por los enterocitos (Recuadro 11-1). La Tabla 11-2 clasifica las *proteasas* digestivas y resume sus principales propiedades.

Digestión de los hidratos de carbono

La digestión de los polisacáridos almidón y glucógeno, polímeros de la glucosa, comienza ya en la boca, gracias a una $\alpha(1 \rightarrow 4)$ *glucosidasa*, presente en la saliva, la *α-amilasa salival*, que degrada parcialmente las cadenas lineales de amiloza y amilopectina, dando lugar a moléculas de menor tamaño (Fig. 11-3). Esta degradación es muy breve, sólo dura el tiempo que el alimento está en la boca, pues la enzima no es activa al pH ácido del estómago. En el estómago, sólo hay algo de digestión inespecífica por la acidez del medio, y la digestión propiamente dicha continúa en el duodeno, gracias a una enzima similar a la anterior, aunque sintetizada en el páncreas y presente en el jugo pancreático, la *α-amilasa pancreática*, que tiene exactamente la misma actividad que la salival, por lo que, como aquélla, aunque ahora mucho más ampliamente, por lo prolongado de su contacto con los sustratos, transforma los polímeros originales en una mezcla de oligosacáridos, fundamentalmente, maltosa, maltotriosa y dextrina límite; este último consiste en oligosacáridos de unas ocho unidades de glucosa ramificados, gracias a la conservación de enlaces glicosídicos $\alpha(1 \rightarrow 6)$ que proceden de las ramificaciones originales de amilopectina y glucógeno (Fig. 11-4).

Recuadro 11-1.
ENFERMEDAD DE HARTNUP

Durante un cierto tiempo se pensaba que la digestión de las proteínas siempre debería ser total y que sólo se absorbían los aminoácidos libres. Sin embargo, ahora conocemos que una cierta cantidad significativa de dipéptidos y tripéptidos son absorbidos como tales mediante transportadores específicos, aunque, inmediatamente tras ello, las

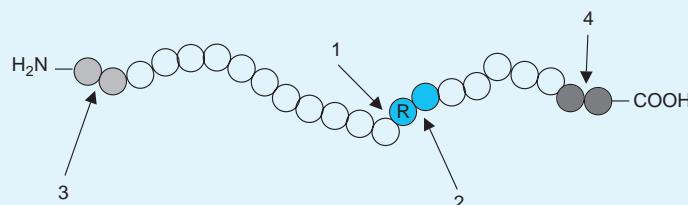
peptidasas del citoplasma del enterocito las degradan, por lo que a la sangre portal sólo llegan los aminoácidos libres.

Los sistemas existentes para captar péptidos son diferentes, e independientes, de los descritos para los aminoácidos. La prueba de ello está en que personas congénitamente carentes de alguno de estos últimos sistemas, concretamente el de los aminoácidos neutros, se ven afectadas por un síndrome conocido como enfermedad de Hartnup.

A pesar de que ese tipo de transporte atañe a varios aminoácidos esenciales que no pueden sintetizarse en el organismo, como Met o Trp, los afectados pueden superar la situación. Ello se debe a que dichos aminoácidos pueden absorberse también por los sistemas específicos de péptidos, de los que las personas afectadas por la enfermedad de Hartnup pueden disponer en cantidad suficiente para que los perjuicios sean menores.

Tabla 11-2. Proteasas digestivas

Enzima	Proenzima	Lugar de síntesis	Sitio de actuación	Activador	Especificidad de enlaces
Pepsina	Pepsinógeno	Mucosa gástrica	Estómago	HCl, autoactivación	1, 2, Tyr, Phe, Leu
Tripsina	Tripsinógeno	Páncreas	Intestino delgado	Enteropeptidasa Tripsina	2 Básicos: Arg, Lys
Quimotripsina	Quimotripsinógeno	Páncreas	Intestino delgado	Enteropeptidasa	2 Tyr, Phe, Trp, Met, Leu
Elastasa	Proelastasa	Páncreas	Intestino delgado	Tripsina	2 Neutros pequeños
Carboxipeptidasa A	Procarboxipeptidasa A	Páncreas	Intestino delgado	Tripsina	4 Todos, excepto básicos
Carboxipeptidasa B	Procarboxipeptidasa B	Páncreas	Intestino delgado	Tripsina	4 Básicos: Arg, Lys...
Aminopeptidasa	—	Mucosa duodenal	Intestino delgado		3



La hidrólisis final a monosacáridos de los oligosacáridos y disacáridos producidos por α -amilasa, así como de los disacáridos naturales (lactosa y sacarosa, fundamentalmente) de la dieta, que no habían sido modificados hasta ahora, la lleva a cabo una serie de *oligosacardasas* y *disacardasas* localizadas en la membrana luminal del enterocito. Entre

ellas destacan la *glucan 1,4- α -glucosidasa* (γ -amilasa), que rompe enlaces glicosídicos terminales, liberando glucosa; la *oligo-1,6-glicosidasa* o *isomaltasa*, capaz de romper los enlaces glicosídicos α -(1 → 6) de dextrinas límite o de isomaltosa; la *α -glucosidasa*, *maltasa*, que hidroliza los enlaces glicosídicos de la maltosa y la maltotriosa, produciendo glu-

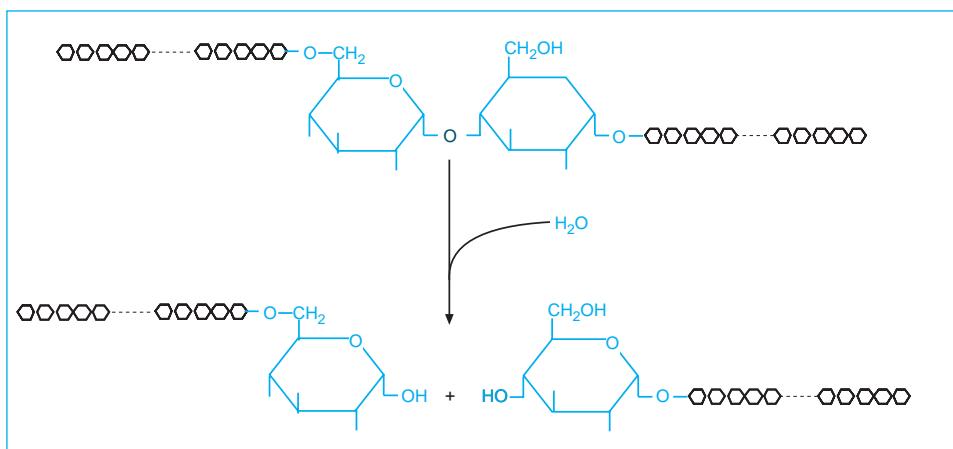


Figura 11-3. La actividad glucosidasa.

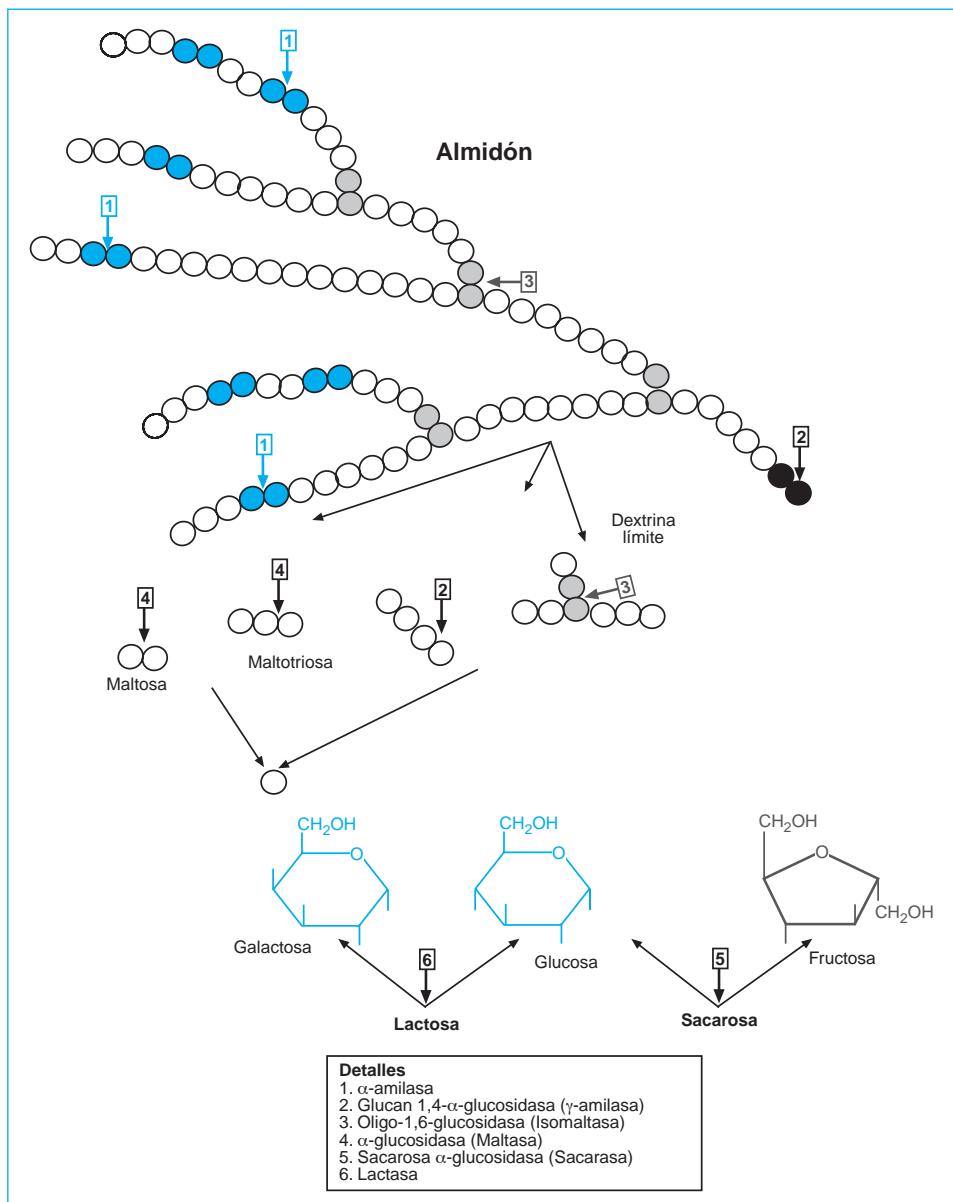


Figura 11-4. Enzimas participantes en la digestión de los hidratos de carbono.

cosa; la *sacarosa α-glucosidasa* (*sacarasa*), que transforma la sacarosa en glucosa y fructosa; y la *lactasa*, una β -*galactosidasa* que hidroliza la lactosa hasta glucosa y galactosa.

Digestión de los lípidos

Como las otras biomoléculas, la mayor parte de los lípidos de la dieta debe transformarse en el tracto digestivo (intestino delgado, duodeno y yeyuno), para que sea posible su absorción. La digestión de los lípidos presenta una cierta dificultad debido a su insolubilidad en el agua, lo que hace difícil el ataque por las enzimas encargadas de su degradación que, como la mayor parte de las enzimas, son hidrosolubles. Conviene que haya un mecanismo que mejore la interacción entre la fase grasa, donde están los lípidos que se han de digerir, y la acuosa, donde están las enzimas hidrolíticas. Ese mecanismo es la emulsión de las grasas, que consiste en la dispersión de los lípidos más apolares, como los triacilgliceroles, por la acción emulsionante de las sales biliares presentes en la bilis, lo que produce un aumento de la superficie de contacto entre las gotitas lipídicas y la fase acuosa, donde están las enzimas, que facilita enormemente la digestión de los lípidos. Esta digestión consiste en la transformación de los triacilgliceroles en una mezcla de diacilgliceroles, 2-monoacilgliceroles y ácidos grasos (Fig. 11-5), gracias a la *lipasa pancreática* que, como su nombre indica, también está presente en el jugo pancreático como proenzima, que sólo se activa al llegar al lumen intestinal.

A medida que la digestión avanza, los 2-monoacilgliceroles y los ácidos grasos producidos se unen a la bilis, contribuyendo a la emulsión de más lípidos, y llegando a formar pequeñas gotitas o micelas de alrededor de 0.1 μm de diá-

metro. La acción de la lipasa se ve favorecida por la presencia de otra proteína pancreática denominada *colipasa*.

La secreción pancreática contiene otras *esterasas* que contribuyen a la degradación, en el lumen intestinal, de los fosfolípidos y ésteres de colesterol, también presentes en la dieta. Los fosfolípidos se convierten en lisofosfolípidos y ácidos grasos gracias a la *fosfolipasa A₂*, sintetizada en el páncreas como proenzima y activada en el intestino por la *tripsina*. Por su parte, la *colesterol esterasa* hidroliza los ésteres de colesterol a colesterol y ácidos grasos.

Digestión de los ácidos nucleicos

Aunque, desde un punto de vista nutricional, los ácidos nucleicos no se consideran componentes fundamentales de los alimentos, de hecho están presentes en todos ellos, y también se degradan en el duodeno como el resto de las biomoléculas de la dieta. La hidrólisis de ADN y de ARN se lleva a cabo mediante *nucleasas pancreáticas* (*ADNasas* y *ARNasas*), que los escinden en nucleótidos; posteriormente, éstos transforman en desoxinucleósidos y nucleósidos gracias a las *fosfatases pancreáticas*, también presentes en el jugo pancreático y, después, estos compuestos nucleosídicos son parcialmente degradados a bases nitrogenadas y pentosas por la acción de las *nucleosidasas pancreáticas*.

En el Recuadro 11-2 se comentan algunos aspectos patológicos de la digestión.

11.2.2 Absorción de los productos de la digestión

Una vez digeridas, las biomoléculas están listas para ser absorbidas, atravesando la membrana luminal del enterocito. En

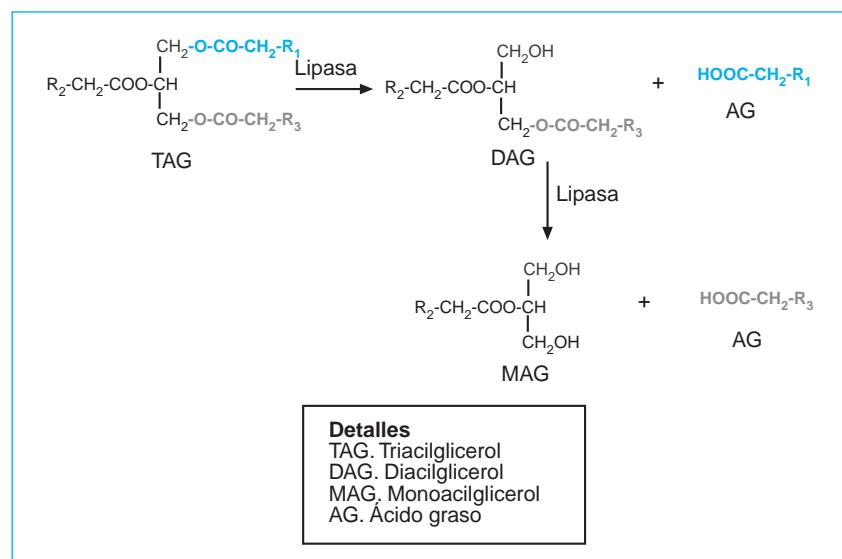


Figura 11-5. Las etapas de actuación de la triacilglicerol lipasa.

principio, los compuestos de naturaleza más parecida a la de los componentes de la membrana, tendrán más facilidad para pasar dicha barrera: una biomolécula será absorbida tanto más fácilmente cuanto menor sea su tamaño y más hidrofóbica sea su estructura, por lo que, en teoría, los lípidos deberían ser fácilmente absorbidos, mientras que los hidratos de carbono y los aminoácidos tendrían más dificultades. Sin embargo, un mamífero sano no tiene problemas para absorber las moléculas de estos compuestos hidrofóbicos pero sí puede tenerlas para conseguirlo con los lípidos. La causa es que en las membranas luminales del enterocito existen sistemas de transporte que permiten absorber con total eficacia e, incluso, en contra de gradientes de concentración, productos teóricamente poco permeables, mientras que los lípidos, que no necesitan transportadores por su carácter hidrofóbico, pueden tener problemas para llegar hasta las membranas enterocíticas desde el lugar de la digestión, el centro del lumen intestinal. A continuación, se expondrá concisamente cómo se produce la absorción de los diferentes tipos de biomoléculas.

Hidratos de carbono

Sólo se absorben los hidratos de carbono de la dieta en forma de monosacáridos, y no todos con la misma facilidad. Tomando como índice 100 el de la velocidad de absorción de

la D-glucosa, el de los otros principales monosacáridos sería: D-galactosa, 110; D-fructosa, 43; D-manosa, 19; D-xilosa, 15 y D-arabinosa, 9.

Cuando se está realizando la digestión, la concentración de D-glucosa en la membrana luminal del enterocito es mucho mayor que en el interior de la célula, lo que favorece el paso del azúcar por transporte mediado pasivo independiente de energía (véase el Cap. 10); para ello, existe un transportador específico de glucosa que funciona mientras haya un gradiente favorable, y que hacia el final de la digestión deja de ser operativo. En ese momento, empieza a funcionar un sistema activo. La D-fructosa y la D-manosa también se absorben por transporte mediado pasivo, mientras que las pentosas, más pequeñas, parece que consiguen pasar por difusión simple.

El transportador activo de la D-glucosa, que también transporta D-galactosa, es un típico ejemplo de transporte activo secundario, que depende de la energía metabólica, aunque no directamente, sino mediante la intermediación de un gradiente de concentración de Na^+ , creado por la acción continua de un transportador que, al mismo tiempo, es una enzima hidrolizante del ATP, la *ATPasa Na^+/K^+* , muy abundante en la membrana basal del enterocito, tal como se expone en el Capítulo 10. Un porcentaje considerable de azúcar (hasta el

Recuadro 11-2. **ALTERACIONES DE LA DIGESTIÓN**

Aunque las reacciones de degradación tienen lugar fuera de las células, las enzimas participantes en el proceso digestivo se degradan, como proteínas que son, por las proteasas digestivas. Por otra parte, las propias células de las mucosas intestinales, aunque sus proteínas de membrana están protegidas por glicosilación o por la presencia de otros agentes protectores, como las mucinas, también son atacadas. Una forma de protegerse de este desgaste es poseer un alto grado de renovación. Se estima que en el ser humano adulto se recambian 50 g de enzimas digestivas y 20 g de células epiteliales cada día, lo que implica la necesidad de una intensa síntesis de zimógenos digestivos, especialmente en el páncreas.

Por ello, la alteración de la función pancreática dará lugar a una reducción en los niveles de jugo pancreático, con

los consiguientes problemas de maldigestión. Puede llegarse a producir una pancreatitis aguda por activación prematura de los zimógenos digestivos en el propio páncreas: las proteasas, inadecuadamente activas, destruirán las células. Para prevenir los efectos nocivos de esta posible activación accidental de la tripsina, el páncreas sintetiza un *inhibidor de la tripsina*, que inhibe la proteasa pancreática en caso de que se active. Las alteraciones pancreáticas afectarán a la digestión de todas las biomoléculas de la dieta, pues, para todas ellas, las enzimas que las degradan son, fundamentalmente, pancreáticas.

La alteración de las células de la mucosa duodenal, ricas en enzimas digestivas, puede acarrear también problemas de maldigestión, especialmente de oligosacáridos. En la enfermedad celíaca se produce una atrofia de las células intestinales, en respuesta a la ingestión de gluten, una proteína del trigo, con la consiguiente disminución

de sus actividades digestivas. Algunos individuos sufren intolerancia a la lactosa, por ausencia de *lactasa*: si ingieren lactosa, al no poderse digerir ni absorber en el intestino delgado, el azúcar llegará al intestino grueso, donde será fermentado en condiciones anaerobias por la flora microbiana, y producirá flatulencia y diarrea, con el consiguiente riesgo de deshidratación.

Asimismo, hay que destacar que el proceso de digestión en el recién nacido muestra notables diferencias con respecto al del adulto. El perfil de las actividades enzimáticas digestivas en el recién nacido está adaptado para digerir la leche materna, por lo que el neonato presenta una gran actividad *lactasa* para digerir la lactosa, principal azúcar de la leche materna, pero posee muy bajos niveles de *amilasas* y *maltasa*, lo que impide la digestión del almidón, que no deberá suministrársele hasta pasados unos cuantos meses, so pena de provocar serios problemas intestinales.

50%) que entra en el enterocito es utilizado por la célula intestinal para sus propias necesidades energéticas; el resto llega hasta la sangre gracias a que la membrana basal posee otros sistemas de transporte pasivo para los monosacáridos, que les permiten llegar al exterior de la célula donde, por su carácter hidrofílico, no tienen problema para ser captados por los capilares de la vena porta, vena por la que llegan al hígado y, desde allí, a los demás tejidos, en función de sus necesidades.

Lípidos

Para la absorción de solutos polares, la capa de agua inmóvil que forma el centro del lumen intestinal no representa ningún problema: se disuelven en ella, recién producidos tras la digestión, y se difunden, a favor de gradiente de concentración, hasta las paredes intestinales. Allí, los centros activos de los correspondientes transportadores los captan y les hacen atravesar la membrana luminal. La situación es diferente para los compuestos producidos en la digestión de los lípidos, que son mayoritariamente insolubles. En este caso la capa acuosa es una barrera casi infranqueable, si no se facilita su paso por ella. Este papel facilitador lo desempeña la bilis; más concretamente, los ácidos biliares, cuya importancia en la digestión ya hemos comentado anteriormente. Pero es mucho más esencial su papel en la absorción de los productos insolubles de la digestión de los lípidos, por su capacidad de formar micelas, inicialmente sencillas, formadas sólo por ácidos biliares, pero a cuyo núcleo central pueden incorporarse, a medida que son producidos, los lípidos de la digestión, dando lugar a micelas mezcla, que son el vehículo ideal que permite que dichos lípidos superen la capa de agua y lleguen a las paredes del intestino (Fig. 11-6). Gracias a ello, la absorción de 2-monoacilgliceroles y de ácidos grasos es muy eficaz. También, las vitaminas liposolubles, A, D, E y K, aprovechan este vehículo para ser absorbidas.

Al llegar a las paredes enterocíticas, las micelas descargan su contenido graso que, por su naturaleza lipídica, semejante a la de las moléculas situadas en la membrana, atraviesa ésta por difusión, sin ayuda de transportadores. Los ácidos biliares de las micelas, de nuevo sencillas, pueden volver al centro del lumen, recargar, formando otra vez micelas mezcla, y reiniciar el ciclo hasta terminar la absorción. Tras ello, los ácidos biliares son mayoritariamente recuperados —no se pierden por las heces—, gracias a un sistema de transporte activo especializado dependiente de Na^+ , ubicado en el fíleon, que constituye el denominado sistema de reciclaje enterohepático de ácidos biliares, tan eficaz que consigue que, tras cada digestión, vuelvan al hígado y se almacenen en la vesícula biliar más del 90% de las moléculas de ácidos biliares.

La bilis, por ello, resulta fundamental, no sólo para la digestión, sino para la absorción de los lípidos de la dieta.

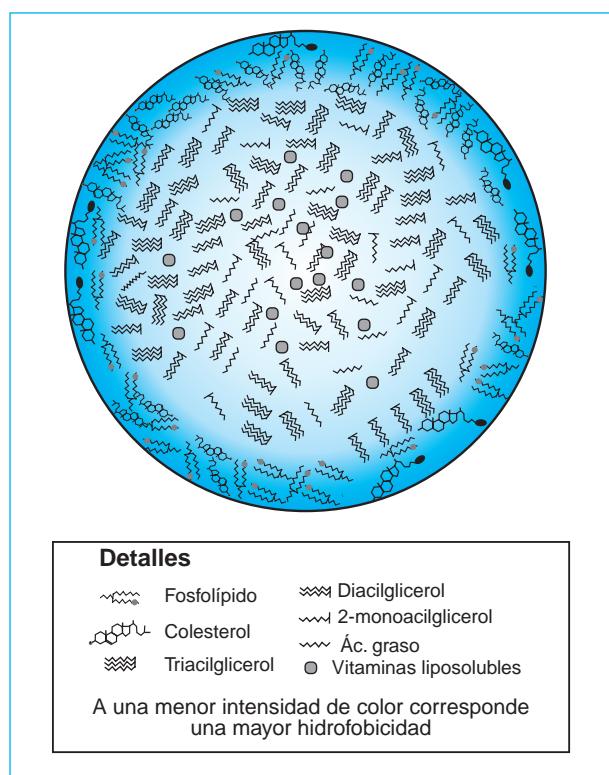


Figura 11-6. Esquema dispositivo de una micela mixta, con los componentes hidrofóbicos más internalizados y los hidrofílicos más exteriores.

Contribuye a la emulsión de las grasas, pero otros compuestos y fuerzas presentes en el lumen durante la digestión pueden, incluso en ausencia de bilis, conseguir un grado de emulsión semejante. En cambio, si no hay ácidos biliares no podrán fabricarse micelas mezcla, lo que conducirá al fracaso de la absorción de los lípidos más insolubles, la mayor parte de los de la dieta, que aparecerán masivamente en las heces, dando lugar a un proceso patológico conocido como estatorrea.

Para que se formen micelas debe alcanzarse, en el lumen intestinal, la llamada concentración micelar crítica de ácidos biliares (entre 2 y 5 mM en el medio). Si no se llega a ella, sólo habrá una absorción marginal de lípidos, la pequeña cantidad de éstos que puede disolverse en agua. Una de las causas más frecuentes que hace que no se pueda alcanzar ese valor en el lumen intestinal es la fabricación de una bilis litógena, demasiado rica en colesterol, porque la bilis se compone, además de ácidos biliares, de colesterol, fosfolípidos y pigmentos biliares procedentes de la degradación hepática del grupo hemo. Si, por cualquier motivo, la presencia de colesterol en la bilis crece por encima de un nivel máximo admisible, el exceso de colesterol ya no puede mantenerse disuelto en la bilis y tiende a depositarse y a cristalizar, ori-

ginando piedras o cálculos de colesterol en la vesícula biliar y en los conductos eferentes. El resultado es una obstrucción de la salida natural de la bilis al lumen, en el que no podrá llegar a alcanzar la concentración micelar crítica, lo que desencadenará la esteatorrea.

Llegados los lípidos al enterocito, aún tienen que salir de él para alcanzar los tejidos; debido a su insolubilidad en el medio acuoso celular y, desde luego, en los líquidos internos, sangre y linfa, es preciso que haya un vehículo —recordemos que las micelas no entran en el enterocito—, que pueda llevarlos hasta aquéllos. La solución radica en las lipoproteínas, específicamente, en los quilomicrones, cuyo ensamblaje y metabolismo son considerados en el Capítulo 15.

Si todo funciona de forma adecuada, la absorción de los lípidos de la dieta es prácticamente total, con la única excepción del colesterol, cuya máxima absorción suele ser el 40% del que está presente en el lumen intestinal, excretándose el resto.

Proteínas

En general, los productos de la digestión proteica, los aminoácidos, se absorben gracias a sistemas de transporte activo secundarios, dependientes del gradiente de Na^+ , ubicados en la membrana luminal enterocítica, semejantes al existente para la glucosa y la galactosa. Como la estructura de los diferentes aminoácidos es muy diversa, un solo transportador no es suficiente. Existen varios de ellos, de diferentes tipos: para aminoácidos ácidos, básicos, neutros, iminoácidos, etcétera, hasta cubrir todo el espectro de los aminoácidos proteínicos —y no proteínicos— presentes en la dieta, aunque su esquema de funcionamiento es similar y se parece al de los transportadores de la glucosa y la galactosa (Fig. 10-7), sustituyendo el azúcar por el tipo de aminoácido en cuestión. Una vez dentro del enterocito, gracias a sistemas de transporte pasivo de la membrana basal, una parte de ellos llega al hígado a través de la porta, aunque si se analizan los aminoácidos de esa circulación enterohepática, su composición suele ser cualitativamente diferente de la de los absorbidos, pues los enterocitos metabolizan rápidamente Gln (glutamina), Glu (ácido glutámico), Asp (aspartato) y Asn (asparagina), y sólo una pequeña cantidad de éstos alcanza la corriente sanguínea. Sus esqueletos carbonados y su nitrógeno se convierten, aparte de en CO_2 , lactato y amoníaco, en otros aminoácidos —sobre todo, citrulina, Asp y Pro— que son los liberados, mayoritariamente, a la sangre. Este proceso supone realmente una forma de protección del organismo. En el caso del Glu, utilizado profusamente en ciertas cocinas como la china, su ingesta elevada por algunas personas les provoca diversas molestias, como sensación de quemazón, presión facial y dolor en el pecho, que se engloban bajo el nombre popular de síndrome del restaurante chino.

Minerales

A parte de las biomoléculas, los mamíferos necesitan incorporar diariamente otros elementos imprescindibles para su mantenimiento, como vitaminas y minerales. Las vitaminas se consideran en el Capítulo 9; también, en el Capítulo 35 se trata el caso de dos elementos que participan en la estructura ósea y dentaria, el calcio y el fósforo. Por ello, aquí comentaremos un metal, el hierro, fundamental para la vida aerobia, por su implicación en la captación, almacenamiento y transporte del oxígeno (*véase* el Cap. 30), así como en las proteínas que intermedian el transporte de los electrones (*véase* el Cap. 13).

No es extraordinariamente grande la cantidad de hierro presente en el ser humano: un adulto de 70 kg posee entre 3.7 y 3.9 g. Pero esta escasez cuantitativa contrasta con lo relevante de su presencia. El grueso de esa cantidad —alrededor de un 70%— está implicado en la formación de hemoglobina, la principal proteína captadora de oxígeno, pero el restante 30% participa en moléculas tan decisivas como la mioglobina o los citocromos.

El problema del hierro es su extraordinaria reactividad. Como es sabido, tiene dos estados de oxidación: ferroso (Fe^{+2}) y férrico (Fe^{+3}). Ambos iones pueden reaccionar, de forma totalmente inespecífica, con otros iones —hidroxilos, fosfato, etc.— presentes en los líquidos, con el peligro de formar sales de bajo producto de solubilidad, cuya agregación y precipitación ocasiona, eventualmente, enfermedades. Pero, también, puede hacerlo con moléculas celulares, modificando su estructura y función, lo que igualmente conllevaría graves perjuicios para el organismo. Por ello, nunca hay iones de hierro libres, ni en las células ni en los líquidos. Para conseguirlo, existen diversas proteínas —fundamentalmente dos: ferritina y transferrina—, enormemente afines por el metal al que neutralizan, impidiendo esas reacciones no deseadas.

Lo anterior condiciona, lógicamente, las pérdidas diarias de hierro. Al circular por los líquidos unido a las proteínas, que no pasan el filtro glomerular, un ser humano sano nunca excreta hierro en la orina; las heces sí contienen hierro, pero casi la totalidad es la fracción del presente en la dieta que no se absorbe, fracción que es muy alta. El hierro, pues, se pierde mediante mecanismos marginales, como la descamación de la piel o la pérdida de cabello —sobre todo, en los pelirrojos. El hierro que un adulto varón debe absorber cada día, la llamada necesidad nutricional, que compensa esas pérdidas, es muy pequeña, alrededor de 1 mg. Las mujeres en edad fértil deben sumar la cantidad de hierro que pierden por la menstruación; por ello, según la abundancia de líquido menstrual que las caracterice, su necesidad nutricional fluctúa entre 1.4 y 3.2 mg diarios. Las embarazadas, que deben aportar hierro para la dotación del feto, precisan más: unos 5 mg. También los niños y los enfermos convalecientes deben tomar cantidades superiores a 1 mg.

A pesar de lo exiguo de estas cantidades, no es fácil absorberlas. Hay datos, obtenidos en países desarrollados, sin problemas de suministro, que demuestran que hasta un 20% de la población femenina fértil es deficiente en hierro, es decir, sufre de anemia ferropénica; y también es alto, aunque menor, el déficit de niños y hombres anémicos moderados. ¿A qué se debe este hecho? A que la naturaleza del hierro presente en buena parte de los alimentos, incluso aunque lo contengan en abundancia, no es la más apropiada para favorecer su absorción. Así ocurre en vegetales como el maíz o las espinacas con bastante hierro, pero cuya proporción absorbible es baja, entre el 1% y el 2%. La lechuga, el trigo y la soja mejoran el porcentaje, pero no superan el 5%. La causa es que estos vegetales contienen fitatos y oxalatos que, en el intestino, tienden a formar sales insolubles con el hierro, lo que impide su absorción. Es mucho más asimilable el hierro presente en los tejidos animales: del pescado se absorbe en torno al 10%, mientras el porcentaje de hierro asimilable en la carne supera el 15%. El hígado dispone de mayor porcentaje de hierro absorbible, un 20%. Por ello, lo importante para mantener la homeostasis del hierro es ingerir diariamente la denominada necesidad nutricional, una cantidad notablemente superior a la fisiológica: en este caso, de acuerdo con lo dicho, sería el resultado de multiplicar por un factor entre 10 y 20 esa necesidad fisiológica.

Se sabe que el enterocito absorbe tanto hierro como le es posible. El hierro se absorbe mejor si se encuentra en forma ferrosa (Fe^{+2}), pero hay que tener en cuenta que a valores de pH superiores a 7 —y el del lumen intestinal está sobre 8—, el potencial redox del hierro favorece la forma férrica. No están aclarados totalmente los mecanismos moleculares de absorción de las distintas formas de hierro a través de la membrana luminal, pero sí hay algunos datos indiscutibles: en general, cuanto más hierro hay en el lumen, tanto más se absorbe; cuanto más hierro está en forma ferrosa, tanto más se absorbe; el complejado con hemo se absorbe más fácilmente, y si en el lumen hay presencia de compuestos reductores, como el ácido ascórbico, mejor. Por el contrario, es desaconsejable que coincidan en el lumen oxalatos o fitatos con el hierro. La carne y el pescado, por lo dicho con anterioridad y porque muchos aminoácidos quelatan hierro y, por tanto, lo arrastran cuando ellos son absorbidos, favorecen la satisfacción de la necesidad fisiológica del metal.

La clave de la absorción neta del Fe está en el paso del metal por la membrana basal hacia la zona capilar; tampoco se conoce mucho del sistema responsable de dicho paso, aunque sí que el metal debe estar en forma ferrosa. Parece que existe un delicado control molecular de la cantidad neta que atraviesa la membrana, que está en función del grado de saturación de la proteína plasmática responsable de su transporte posterior por la sangre.

Dicha proteína es la transferrina, glicoproteína de origen hepático, de 78 kD de peso molecular, con una afinidad muy alta por la forma férrica, de manera que puede decirse que si hay transferrina con capacidad de unir iones férricos, no queda libre ningún ion. Cada molécula posee dos centros activos para captar Fe^{+3} . Que el Fe^{+2} que sale a la sangre se transforme en Fe^{+3} no es problema: aparte de que el pH, ligeramente alcalino, del líquido lo favorece, existen en el plasma enzimas como las *ferroxidasas* —la I o *ceruloplasmina*, y la II— que aseguran dicha oxidación. Volviendo al control de la absorción de Fe, un adulto sano suele tener 1/9 parte de las moléculas de transferrina saturadas; 4/9 partes semisaturadas, y 4/9 partes totalmente vacías. Variaciones hacia arriba o hacia debajo de esos valores favorecen o desfavorecen la salida del enterocito de más hierro.

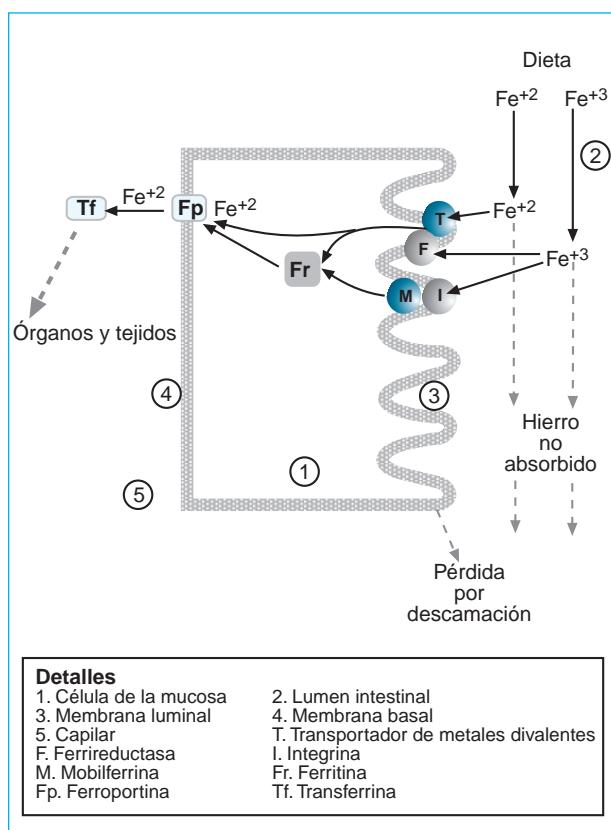


Figura 11-7. Esquema simplificado de la absorción del hierro. En el enterocito puede almacenarse, al unirse a la apoferritina para formar ferritina. La transferrina se encarga de su transporte a los tejidos donde se necesita, en cuyas células operan sistemas de endocitosis mediada por el receptor a la transferrina, que trasfiere el hierro a las apoferritininas intracelulares, para su almacenado y posterior utilización. Los cambios en los estados de oxidación del hierro se favorecen por factores externos o por la acción de enzimas redox.

Desde este punto de vista, puede resultar interesante definir un parámetro plasmático relacionado con este control, la capacidad latente de captación de hierro: el número de centros circulantes capaces de captar hierro que se encuentran libres en un momento dado. Evidentemente, el número total de centros, saturados o no, será la capacidad total de captación de hierro. El valor de estos parámetros, mediante un mecanismo molecular no claramente elucidado, regula el mantenimiento del nivel adecuado de absorción de hierro.

¿Qué sucede con el hierro que ha entrado en el enterocito y que no puede salir a la sangre por las restricciones del sistema de control? Dicha célula, como todas las demás del organismo, puede sintetizar una proteína, la ferritina, multimerica, de peso molecular global mayor de 400 kD, montada a partir de 24 subunidades del polipéptido base, la apoferritina, la expresión de cuyo gen está controlada directamente por los niveles de hierro citoplasmático. La ferritina funciona como un contenedor para el hierro, al que almacena en su núcleo, en forma de fosfato hidroxiférrico; una molécula puede llegar a contener hasta 4 500 átomos de Fe. Los demás tejidos a los que llegue hierro —la práctica totalidad—, que no tenga que utilizarse de inmediato como componente de las diferentes moléculas en las que participa, dispone de este mismo sistema de almacenaje: cuanto más Fe haya, tanta más apoferritina se fabrica y tantos más contenedores de ferritina se montan. Por eso, no es problema que el enterocito capte

mucho más Fe que el que pueda ceder a la transferrina plasmática; ese Fe se almacena dentro de la ferritina y, cuando tiene lugar la descamación celular para dejar paso a los nuevos enterocitos, su contenido en hierro queda libre en el lumen, al digerirse la ferritina. El Fe liberado se añade al depósito intestinal y opta a ser reabsorbido; el máximo porcentaje posible lo será, y el resto se perderá en las heces.

¿Cómo capta una célula de un tejido cualquiera el Fe que transporta la transferrina? Lo hace mediante un mecanismo de endocitosis mediada por receptor, semejante al responsable de la captación de las LDL (lipoproteínas de baja densidad) (véase el Cap. 15). En sus membranas plasmáticas, esas células disponen de «hoyos revestidos», ricos en receptores que reconocen la transferrina, aunque, específicamente, las moléculas que tienen sus dos centros captadores de Fe saturados; la formación del complejo desencadena la endocitosis que, en este caso, preserva las moléculas de transferrina que son devueltas a la sangre sin ser destruidas, para volver a ser utilizadas. El hierro iónico permanece en la célula; si se necesita de forma inmediata, se usa en la fabricación de hemoglobina, citocromos o cualquier otra ferroproteína necesaria; si no, se almacena en el interior de los recipientes de ferritina. Un esquema global de la absorción intestinal del hierro se puede visualizar en la Figura 11-7.

Las principales enfermedades derivadas de problemas en el aporte de hierro o en la regulación de su absorción son la anemia ferropénica y la hemocromatosis (Recuadro 11-3).

Recuadro 11-3.

PROCESOS PATOLÓGICOS DEL METABOLISMO DEL HIERRO

La anemia ferropénica se produce cuando no llega al organismo hierro suficiente para compensar las pérdidas, y la hemocromatosis aparece cuando falla el sistema de control de la absorción y se absorbe mucho más metal del necesario; el exceso de hierro puede superar la capacidad de almacenamiento de las dotaciones genéticas de ferritina —hay afectados que llegan a tener un total de 100 g de hierro en sus tejidos— y las sales de hierro, que al desbordar la ferritina ya no pueden ser mantenidas alejadas de los componentes celulares, acaban reaccionando de forma inespecífica con éstos y produciendo afecciones tales

como insuficiencia cardíaca, pancreatitis, impotencia sexual, etcétera. La mayoría de estos enfermos lo son de forma congénita; sufren de hemocromatosis idiopática, y deben su problema a mutaciones en los genes que controlan la entrada neta del hierro.

Otras alteraciones hemocromatósicas son adquiridas; entre ellas, destacan los alcoholicos crónicos que absorben mucho más hierro del que deberían porque sus estómagos producen más acidez de lo normal, lo que baja algo el pH intestinal, con el consiguiente aumento de los niveles de Fe^{+2} en el lumen y, por tanto, de su entrada en el enterocito.

La determinación del valor de la capacidad latente de captación del hierro de un paciente puede ayudar a diagnosticar su enfermedad. Los anémicos ten-

drán valores mucho más altos del parámetro, mientras que los hemocromatósicos los tendrán muy bajos, en los casos más graves, cercanos a cero. Los valores normales del parámetro oscilan entre el 50% y el 79% de la capacidad total.

El tratamiento de ambos procesos patológicos es, lógicamente, diferente: la anemia se corrige suministrando dietas más ricas en hierro asimilable, aunque hay que tener precauciones porque se han dado casos de personas sometidas a este suministro adicional que han acabado teniendo problemas de hemocromatosis. Por el contrario, el tratamiento de la hemocromatosis se hace mediante fármacos capaces de quesar el hierro, lo que evita su absorción, o sometiendo a los pacientes a sangrías frecuentes y controladas.

RESUMEN

- Los nutrientes poseen varias funciones: a) energética; b) material, y c) catalítica.
- Respecto a las funciones energéticas, el principio básico es que, en situación de equilibrio estacionario, la energía proporcionada por los nutrientes ha de equivaler a la energía utilizada, suma del metabolismo basal y la actividad física o metabolismo energético. Aunque los lípidos proporcionan una mayor energía de combustión por gramo que los hidratos de carbono, la situación es la contraria si la referimos por litro de oxígeno consumido.
- Respecto a sus funciones materiales, los hidratos de carbono son indispensables por sus funciones anapleróticas de restauración de los componentes del ciclo del citrato; algunos ácidos grasos, los poliinsaturados son esenciales y no los sintetiza nuestro organismo, se deben tomar por la dieta. Lo mismo sucede con los aminoácidos esenciales.
- Una dieta equilibrada debe aportar aproximadamente un 55% de su energía total, a partir de hidratos de carbono, un 30% de lípidos (repartidos, a tercios, entre ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados) y un 15% de proteínas de buen valor biológico. Asimismo debe contener una cantidad suficiente de iones, oligoelementos y vitaminas para el buen funcionamiento de los procesos catalíticos.
- Salvo las vitaminas y los minerales, las biomoléculas de la dieta están en forma polimérica que impide su absorción intestinal. De ahí, la necesidad del proceso enzimático de la digestión, que tiene lugar, sobre todo, en el duodeno y el yeyuno.
- En la digestión, las proteínas son convertidas en aminoácidos; los hidratos de carbono más abundantes en la dieta, almidón y glucógeno, en glucosa —también hay disacáridos que, igualmente, son degradados a monosacáridos— y los triacilgliceroles, en 2-monoacilgliceroles y ácidos grasos libres.
- Los azúcares comienzan a ser degradados en la saliva por una *amilasa*; las proteínas, en el estómago, por la *pepsina*. Pero el grueso de la digestión ocurre en el intestino delgado, gracias a la llegada, simultánea a la del bolo alimenticio, del jugo pancreático, lleno de zimógenos de hidrolasas de diferente carácter (lipasas y proteasas) y de amilasa, ya activa. Los zimógenos son activados en el lumen intestinal, lo que permite la digestión.
- La digestión de los lípidos, por el carácter apolar de éstos, precisa de una previa emulsificación de las grasas, a la que contribuye la bilis.
- La digestión de las proteínas y los hidratos de carbono culmina gracias a la acción de las enzimas ubicadas en la membrana luminal de los enterocitos. La carencia de alguna de estas enzimas, o problemas en el funcionamiento de las mismas, origina enfermedades que pueden ser graves.
- La absorción, simultánea a la digestión, es diferente según la naturaleza de las biomoléculas; para las de carácter apolar, hay transportadores, generalmente de carácter activo, en la membrana luminal, mientras que los lípidos, necesitan de la participación de micelas de ácidos biliares que les permiten llegar al enterocito.
- El hierro es un mineral no muy abundante, pero fundamental para procesos vitales, como la captación de oxígeno y la respiración celular. A pesar de que la necesidad nutricional no es muy alta, no es fácil satisfacerla, lo que conduce, frecuentemente, a anemias ferropénicas.
- Por su gran reactividad, el Fe debe estar siempre controlado en los tejidos y líquidos animales. Para ello, existe una serie de proteínas, fundamentalmente ferritina y transferrina, encargadas de impedir que existan iones de este metal libres.
- Algunas personas no regulan bien la absorción de Fe, y tienden a acumularlo en cantidades hasta cien veces superiores a lo normal. Estas personas sufren de hemocromatosis, que puede tener un carácter congénito.

EVALUACIÓN

1. (B). Consideraciones energéticas y materiales:

1. La participación media de las proteínas de la dieta en la obtención de energía celular es del orden del 15% de la ingestión total calórica.
2. Durante toda la vida de una persona, desde el nacimiento hasta la vejez, los requerimientos mínimos diarios de los distintos tipos de biomoléculas no varían.
3. Todas las proteínas no tienen el mismo valor nutricional, que depende de su composición y de su capacidad de asimilación.
4. No hay ningún compuesto nitrogenado que tenga el carácter de esencial, o sea, que deba estar obligatoriamente presente en la dieta.

a b c d e

2. (C). Los lípidos son el tipo de biomoléculas que más debe consumir un adulto para satisfacer sus requerimientos nutricionales PORQUE son las biomoléculas que, por peso, presentan un rendimiento energético menor.

a b c d e

3. (C). Una dieta exenta de hidratos de carbono y muy rica en grasas, tomada en grandes cantidades, produce una alta ganancia de peso PORQUE el contenido energético de dicha dieta es más alto que si estuviese compuesta, fundamentalmente, por hidratos de carbono.

a b c d e

4. (B). Nutrición. Aspectos materiales.

1. Un alto consumo de frutas y vegetales, tras su complejo catabolismo, suele favorecer una alcalinización de los líquidos corporales.
2. Los hidratos de carbono de las dietas son transformables en ácidos grasos corporales.
3. No existen hidratos de carbono alimenticios esenciales.
4. Los ácidos grasos de la dieta son transformables en hidratos de carbono corporales.

a b c d e

5. (A). Nutrición. Aspectos energéticos.

- a. La energía aprovechable de los nutrientes es su entalpía de combustión.
- b. Por litro de O₂ consumido en su oxidación total, el rendimiento energético de los hidratos de carbono supera al de los lípidos.
- c. El cociente respiratorio de los lípidos supera al de los hidratos de carbono.
- d. El metabolismo basal de una persona es directamente proporcional a su peso.
- e. Dos personas físicamente semejantes (edad, sexo, altura, peso), necesariamente poseen el mismo valor individual de metabolismo basal.

6. (A). Absorción de los productos de la digestión.

- a. Una persona que fabrique una bilis litogénica sufrirá, presumiblemente, de unas heces esteatorreicas.
- b. Sólo hay absorción de dichos productos en el duodeno.
- c. La presencia en las células enterocíticas de ouabaína sólo dificultará la absorción de la fracción lipídica de la dieta.
- d. El Na⁺ sólo se absorbe, de forma neta, en el intestino grueso, cuando ya se han absorbido las otras biomoléculas.
- e. El Fe sólo se absorbe en el estómago, debido a que su pH ácido favorece el que el metal se encuentre en su valencia +2.

7. (B). Aspectos patológicos de la absorción y el transporte de las biomoléculas.

1. Una aminoaciduria neutra puede ser indicativa de que quien la presente está afectado por la enfermedad de Hartnup.
2. Una persona que sufra una afección renal crónica, presumiblemente tendrá una concentración de Ca⁺² en la sangre mayor que la normal.
3. El que el valor del parámetro plasmático, capacidad latente de captación de Fe de una persona, sea cero permite suponer que pudiera estar afectada de hemocromatosis.
4. Una persona que sufra de anemia ferropénica tendrá unos valores muy altos de Fe en su orina.

a b c d e

8. (C). En la boca comienza la digestión de todos los tipos de iomoléculas de los alimentos PORQUE en la saliva hay *α-amilasa, lipasas y proteasas*.

a b c d e

9. (B). Digestión y absorción de los alimentos.

1. La *α-amilasa* salival y la *α-amilasa* pancreática son la misma enzima, aunque actúan en diferentes zonas del conducto orogastrointestinal.
2. En ausencia de bilis, se detienen totalmente la digestión y la absorción intestinal de los lípidos.
3. La malformación de la membrana luminal de los enterocitos, que implique la inexistencia de enzimas, dará lugar a unas heces ricas en disacáridos y oligopeptidos.
4. Cada día se excretan en las heces todos los ácidos biliares que llegan al intestino con la bilis, ya que no existe ningún sistema que los recupere.

a b c d e

10. (A). Digestión y absorción de los lípidos de la dieta.

- a. La *lipasa pancreática* es una enzima que empieza a actuar en el estómago.

EVALUACIÓN (continuación)

- b. Los lípidos más apolares entran en los enterocitos junto a los ácidos biliares, en el interior de unas partículas complejas llamadas micelas.
- c. Alguien que carezca de la capacidad de fabricar proteínas en sus células enterocíticas no tiene por qué tener problemas para absorber los lípidos más insolubles de la dieta.
- d. En el jugo pancreático no hay ninguna enzima degradadora de lípidos.
- e. Nada de lo anterior es cierto.
11. (C). Diariamente hay muy poca pérdida de ácidos biliares en las heces **PORQUE** los ácidos biliares se absorben conjuntamente con los productos de la digestión de los lípidos.
- a b c d e
12. (A). Absorción intestinal y renal de nutrientes.
- a. Sólo hay transportadores activos en la membrana luminal de los enterocitos, mientras que en la luminal de los túbulos renales, únicamente los hay pasivos.
- b. Una aminoaciduria neutra puede deberse a falta de vitamina B₁₂ en la dieta.
- c. La no consecución de la denominada concentración micelar crítica de ácidos biliares en el intestino dará lugar a unas heces de coloración normal, pero anormalmente ricas en almidón, proteínas y triacilgliceroles sin digerir.
- d. La presencia de glucosa en el suero que se suministra a los afectados de cólera es algo desaconsejado, que sólo puede conducir a acelerar la deshidratación del enfermo.
- e. Nada de lo anterior es cierto.
13. (C). Una persona cuyo valor de capacidad latente de transporte del Fe sea casi cero puede padecer de hemocromatosis idiopática **PORQUE** dicho valor significa que la mayor parte de los centros captadores de Fe de las moléculas de transferrina que circulan por su sangre están vacías.
- a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Ferraris RP, Carey HV: Intestinal transport during fasting and malnutrition. *Ann Rev Nutr* 2000; 20: 195-220.
- Gorovits N, Charron MJ: What We Know about Facilitative Glucose Transporters: Lessons from Cultured Cells, Animal Models, and Human Studies. *Biochem Mol Biol Educ* 2003; 31: 163-172.
- James DE, Gustav EL, Jan WS *et al*: Absorción celular de la glucosa. *Inv y C* 1992; marzo: 22-29.
- Leonard W: Incidencia de la dieta en la hominización. *Inv y C* 2003; febrero: 48-57.
- Marger MD, Saier MH: A major superfamily of transmembrane facilitators that catalyse uniport, symport and antiport. *TiBS* 1993; 18: 13-20.
- Okar DA: Starvation amidst plenty: PDKs and diabetes mellitus. *TiBS* 2002; 27: 227-228.
- Weindruch R: Restricción calórica y envejecimiento. *Inv y C* 1996; marzo: 12-19.
- Willett W, Stampfer M: Nueva pirámide de la alimentación. *Inv y C* 2003; marzo: 54-61.

MECANISMOS HORMONALES DE LA REGULACIÓN METABÓLICA. LA TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES

12.1 INTRODUCCIÓN

Los organismos superiores, como el ser humano, poseen mecanismos de comunicación intercelular, intertisular o interorgánica y de defensa ante agentes externos. Los sistemas inmunitario, neurológico y endocrino están íntimamente relacionados y conectados entre sí y las importantes interacciones existentes entre ellos aconsejan el uso de la expresión *regulación neuroinmunoendocrina*. En el Capítulo 31 se describen las generalidades sobre la respuesta inmunitaria y en el Capítulo 33, se trata de la transmisión de los estímulos eléctricos. En cuanto al *sistema endocrino* (estímulos químicos), es un ejemplo típico de lo que se puede considerar un capítulo más general, la *transducción de señales*, que comprendería la producción, la transmisión, la detección y el procesamiento de diversos estímulos, que mediante las denominadas cascadas de transducción de señales modulan y regulan buena parte de las actividades de células, órganos, tejidos y seres vivos.

La palabra *hormona*, del griego *hormaein* (excitar), fue utilizada en 1905 por Starling y Baylis para identificar a la *secretina*, sustancia secretada en la mucosa del yeyuno, como respuesta a la acción estimulante del jugo gástrico. La secretina, a su vez, activa intensamente la producción del jugo pancreático que participa en la función digestiva intestinal (Fig. 12-1).

El sistema endocrino es esencial para la ejecución de importantes funciones del organismo:

1. Mantenimiento de la homeostasis: por ejemplo, la glucemia varía poco, independientemente de la ingestión de los alimentos, gracias a la acción de hormonas como la insulina y el glucagón (véase el Cap. 14).
2. Respuesta a las circunstancias externas: así, la adrenalina permite la inmediata disponibilidad de energía (véanse los Caps. 14, 17 y 32).
3. Ejecución de diferentes programas fisiológicos cíclicos y de desarrollo, como los ciclos de sueño/vigilia, la maduración y diferenciación sexuales o la menstruación y el embarazo, que son controlados por diversas hormonas.

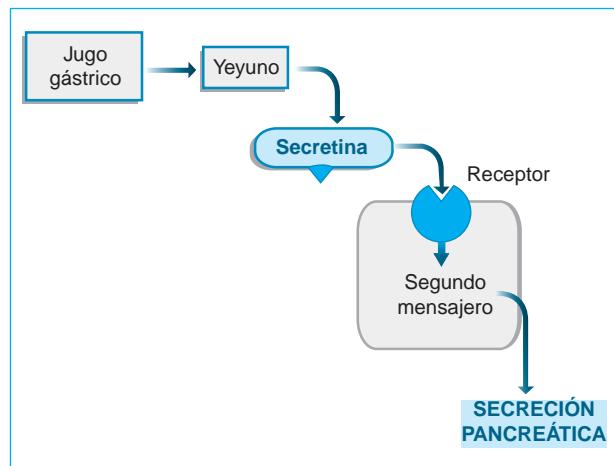


Figura 12-1. La hormona secretina es un componente de un sistema de cascada de estímulo de señales iniciado por la secreción del jugo gástrico, que conduce a un incremento de la secreción pancreática.

Las hormonas son *mensajeros químicos*, sintetizados por el sistema endocrino, en respuesta a ciertas señales internas o externas del organismo, entre las que destacan las del sistema nervioso. Los mensajes químicos hormonales son reconocidos específicamente en las células por *receptores*, proteínas que, mediante una transducción molecular de la señal, favorecen la aparición de otros *segundos mensajeros* intracelulares, los cuales, a través de mecanismos e intermedios más o menos complejos, provocan importantes modificaciones en la cantidad, la calidad, o ambas, de ciertas proteínas y enzimas esenciales (Fig. 12-2).

12.2 RECONOCIMIENTO HORMONA-RECEPTOR

Muchas hormonas se sintetizan regularmente, como respuesta a estímulos específicos, en lugares precisos, las *glándulas endocrinas*. Tras ello, pasan a la circulación sanguínea y alcanzan las células de los órganos o tejidos objeto de su acción (*células diana* o *células blanco*). Además de este *mecanismo endocrino*, se conocen los mecanismos *paracrí-*

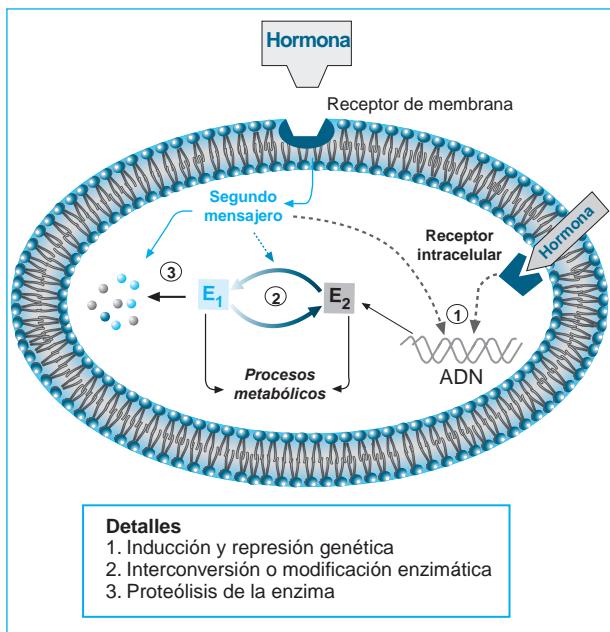


Figura 12-2. Las hormonas regulan la cantidad y calidad de las enzimas y proteínas mediante una amplia variedad de mecanismos diferentes.

nos, con acción en lugares próximos a los de síntesis, o de tipo *autocrino*, en los que es la propia célula diana la que produce la hormona.

Las células diana cuentan con receptores proteínicos específicos capaces de reconocer a las hormonas y distinguirlas entre sí. Se puede hablar de tres tipos principales de receptores:

1. Receptores como los de las hormonas esteroideas. Son proteínas citoplasmáticas o nucleares. O ambas, que, tras reconocer a la hormona, suelen activarse y actuar como factores de transcripción (véase el Cap. 20).
2. Receptores como los de la hormona adrenalina. Son receptores transmembrana de siete hélices. Su activación facilita la producción de segundos mensajeros que intermedian la señal hormonal dentro de la célula (Fig. 12-3).
3. Receptores como el de la insulina y el de los factores de crecimiento. Atravesan la membrana y, tras su activación, se pueden autofosforilar actuando como proteína quinasas específicas de tirosina (Fig. 12-4). En algunos casos, como el de la hormona del crecimiento, el receptor se dimeriza, como consecuencia de su unión con el ligando, y expresa la señal mediante una fosforilación cruzada entre los dominios quinasas del receptor y una quinasa específica (*quinasa Janus 2, JAK2*, en el caso de la hormona del crecimiento).

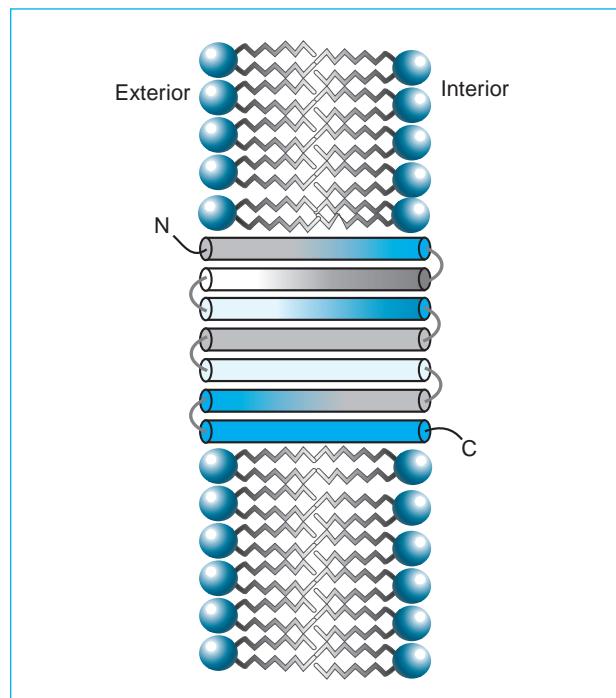


Figura 12-3. Representación esquemática de un receptor transmembrana de siete hélices. Pueden mediar multitud de funciones biológicas: acción hormonal, carcinogénesis, crecimiento y diferenciación celular, desarrollo, embriogénesis, exocitosis, neurotransmisión, secreción de hormonas, sentidos del gusto, olfato y visión, quimiotaxis, entre otros. Los receptores transmembrana de siete hélices se asocian en las membranas con proteínas G.

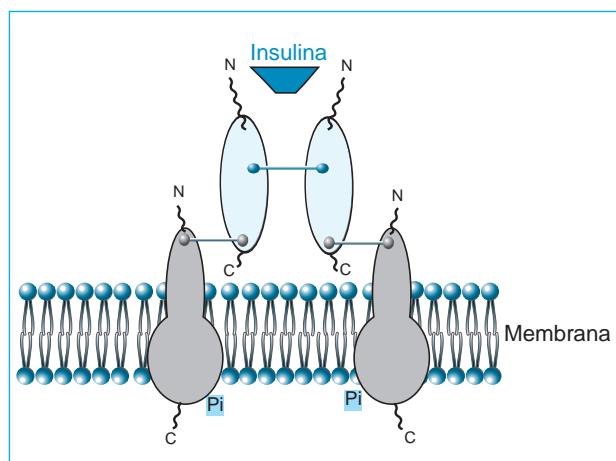


Figura 12-4. El receptor de la insulina es una glucoproteína dimérica, con dos subunidades α (azul) y otras dos β (gris), conectadas entre sí por enlaces disulfuro. En las subunidades β se sitúan los dominios tirosina quinasa, que facilitan una cascada de fosforilaciones, iniciada por su propia autofosforilación.

Cuando en la célula diana la hormona es reconocida por su receptor, la consecuencia de ello es el desencadenamiento de una cascada de acontecimientos moleculares como, en algunos casos, la activación de alguna enzima ligada a la membrana, lo que provoca la subsiguiente síntesis o liberación intracelular de otra molécula, un *segundo mensajero*, responsable de las acciones metabólicas reguladoras finales de la hormona. Las hormonas liposolubles, como las esteroides o las tiroideas, que atraviesan las membranas celulares, son reconocidas por receptores intracelulares, y su efecto final suele ser el de regular la transcripción (inducción o represión) de genes específicos, controlando la cantidad sintetizada de una proteína o enzima.

Por tanto, la acción hormonal no *inventa* nuevas transformaciones metabólicas. Sus efectos son los de regular las posibilidades metabólicas previamente existentes en las células, a través de la modulación de actividades enzimáticas esenciales o mediante el control de la expresión de algunos genes. Como consecuencia del reconocimiento entre hormona y receptor se desencadena una cascada de sucesivas amplificaciones (*activación en cascada*), pudiéndose alcanzar factores de multiplicación tan altos como 10^8 .

La acción hormonal está temporalmente acotada. Uno de los factores que afectan a su duración es la diversa vida media de las moléculas de hormonas y de sus receptores, consecuencia de su naturaleza química y de su metabolismo. Así, mientras que la vida media de la adrenalina es de tan sólo 30 segundos, la de la insulina es de 40 minutos y la de la tiroxina alcanza 6 ó 7 días. Para lograr el acotamiento temporal, también existen otras posibilidades, que son consecuencia de las propiedades de los componentes del propio proceso secuencial de acontecimientos.

12.3 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA ACCIÓN HORMONAL

La interacción reversible entre la hormona y su correspondiente receptor proteínico es de tipo no covalente, mediante enlaces débiles, y posee una *afinidad* muy alta.

El equilibrio hormona-receptor se puede expresar como:



$$y \quad K_d = \frac{[H][R]}{[HR]} \quad [12.2]$$

La K_d , o constante de disociación del equilibrio, puede alcanzar valores de 10^{-8} a $10^{-11} M$, por lo que la cantidad de hormona libre o de receptor libre frente a la de hormona enlazada al receptor es pequeña. Ello permite que una hor-

mona pueda ejercer su efecto a concentraciones, a veces, tan bajas como $10^{-10} M$. En el caso de una disolución de sacarosa, esta concentración equivaldría a la obtenida al disolver una sola cucharada de azúcar en toda el agua contenida en unas 3000 piscinas de un buen tamaño. Por otro lado, la especificidad hace posible que una molécula de receptor sea capaz de reconocer una determinada molécula de una hormona proteínica, entre millones de moléculas pertenecientes a miles de proteínas diferentes que se encuentren presentes.

La interacción entre la hormona y el receptor va seguida de diversas transformaciones. Por ello, es comprensible que los resultados metabólicos finales sean múltiples y dependientes de la naturaleza de los circuitos metabólicos sensibles presentes en las células blanco. Por razones similares, un mismo efecto metabólico final se puede producir por hormonas diferentes capaces de activar a un mismo mecanismo intracelular. Igualmente, una misma hormona puede ser reconocida por diversos receptores, en diferentes células, lo que conduce a efectos distintos. Así ocurre con la adrenalina y sus receptores alfa, hecho que favorece la contracción del músculo liso en el lecho vascular de la piel (causa de la palidez tras un susto), mientras que otros receptores, beta, del músculo liso de los bronquiolos pulmonares son responsables de la relajación, lo que resulta beneficioso para el control de ciertos episodios alérgicos. La regulación de la interacción entre la hormona y el receptor es compleja, e incluye diversos factores: el número de receptores para la hormona, la dependencia de otras hormonas; las características metabólicas de la molécula del receptor, con posibilidades de que sufra desprendimiento superficial, endocitosis, proteólisis, etcétera, o la modificación de su comportamiento (cooperatividad, desensibilización), por la interacción de otros ligandos, de otras hormonas e, incluso, de su propia hormona.

Es comprensible, por tanto, que en los últimos años, dentro de la Patología Molecular, se haya incorporado un apartado importante, el de las *receptopatías*, o enfermedades cuya causa molecular radica en un inadecuado funcionamiento del complejo entrampado relacionado con el reconocimiento entre hormona y receptor, o con los numerosos factores que pueden afectarle (Recuadro 12-1).

12.4 BLANCOS METABÓLICOS DE LA ACCIÓN HORMONAL

El resultado final de la acción hormonal suele ser el de regular la cantidad o la actividad de una enzima que participa en lugares esenciales de una vía metabólica (Fig. 12-5), como son los siguientes:

Recuadro 12-1.

RECEPTOPATÍAS

El reconocimiento específico de moléculas por los correspondientes receptores no es una característica aplicable sólo a las hormonas, sino a diversas e importantes biomoléculas, como neurotransmisores, factores reguladores, de crecimiento y otras. La consecuencia del reconocimiento puede afectar a procesos metabólicos, pero, también, a las sinapsis, a expresiones génicas determinadas, a la apertura o cierre de canales iónicos, etcétera.

Los receptores, aparte de otras localizaciones ya consideradas en el texto, están presentes en la superficie de los diversos órganulos de la célula. Al tratarse de proteínas, sus características, cantidad, distribución y comportamiento pueden verse afectados por mutaciones y alteraciones génicas, que afecten a su biosíntesis. Su concentración o cantidad también pueden variar por problemas en su catabolismo. En cuanto a su calidad o actuación biológica, pueden cambiar por alteraciones estructurales, condiciones fisicoquímicas, efectores,

entre otros. Todo ello hace que las posibles alteraciones en los receptores (receptopatías) sean múltiples.

En los últimos años, se están descubriendo muchas enfermedades debidas a receptopatías. Las mutaciones de los genes que codifican los receptores de moléculas de señalización pueden ser patológicas tanto si producen una ganancia de función, como si determinan una inactivación de la proteína receptora. Así, ciertas mutaciones activadoras de los receptores para factores de crecimiento u hormonas trópicas, hacen que la proliferación celular se dispare, ocasionando displasias o, incluso, tumores malignos. Como ejemplo, las mutaciones activadoras del receptor para la hormona estimulante del tiroides, TSH, originan diversas displasias tiroideas: la hiperplasia tóxica autosómica dominante o el adenoma hiperfuncional de tiroides. Por contraposición, las mutaciones con pérdida de función de un receptor para un factor trópico o de supervivencia, provocan inhibición de la proliferación o la muerte, a lo largo del desarrollo embrionario, de las células dependientes de dicho factor. Por ejem-

plo, el receptor Kit reconoce un factor de crecimiento y supervivencia, que es esencial para las células precursoras sanguíneas y germinales y para los melanocitos. De este modo, algunas mutaciones del gen del receptor causan el síndrome de Waardenburg y determinan la aparición de anemia, esterilidad y falta total de melanocitos, en localizaciones, tanto epidérmicas como extraepidérmicas, como la estría vascular del oído interno, lo que produce sordera.

Además de las mutaciones con efectos patológicos, otras variantes aleáticas se ligan a distintos matices funcionales de la población normal, contribuyendo a las diferencias fenotípicas observadas en las especies. Por ejemplo, la pigmentación epidérmica de los mamíferos depende, en gran medida, del receptor de la hormona estimulante de los melanocitos, MSH, del que existen numerosas variantes. Una variante polimórfica del receptor, producida por una determinada mutación, conduciría a una pérdida de función moderada y a la aparición de los pigmentos típicos de los pelirrojos y, en el cerebro, a una modificación respecto a la sensibilidad hacia ciertos anestésicos.

1. *Etapa generadora de flujo*, al comienzo de la vía metabólica. Un claro ejemplo se verá en el Capítulo 14, en la glucogenólisis, con la regulación de la fosforilasa hepática mediante las hormonas glucagón y adrenalina.
2. *Ramificaciones o bifurcaciones metabólicas*, para escoger el camino preferente de transformación que ha de seguir un determinado metabolito. Un ejemplo sería la acción de la insulina sobre los acilCoA (aceitilcoenzima A), de modo que esta hormona hace que tales acilCoA se conviertan en grasas, dificultando simultáneamente su β -oxidación hasta dióxido de carbono y agua (véase el Cap. 15).
3. *Ciclos de sustratos*. En capítulos posteriores se examinarán algunos de estos ciclos que, básicamente, consisten en vías metabólicas contrapuestas, catalizadas por diferentes enzimas, que permiten convertir un metabolito en otro, y viceversa, de manera que el funcionamiento cíclico del proceso produce un consumo energético en cada vuelta del ciclo. A veces, estos ciclos se han denominado *ciclos fútiles*. Ello es incorrecto, ya

que, realmente permiten, a través de las regulaciones hormonales de las enzimas participantes, que se module con precisión el sentido y la intensidad del flujo metabólico global, así como que se adapten inmediatamente a las variables condiciones fisiológicas. Un buen ejemplo es el de la pareja de enzimas fosfofructoquinasa y fructosa bifosfatasa, en condiciones de reposo o de intenso ejercicio muscular (véase el Cap. 32).

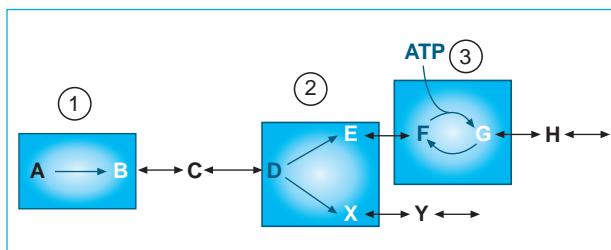


Figura 12-5. Lugares metabólicos sensibles a la regulación hormonal. 1. Comienzo de las vías metabólicas; 2. Bifurcaciones metabólicas; 3. Ciclos del sustrato.

12.5 CLASIFICACIÓN DE LAS HORMONAS

En los seres humanos se conoce aproximadamente un centenar de hormonas. Para su clasificación se pueden emplear diversos criterios:

El *fisiológico* hace hincapié en la naturaleza de las consecuencias finales de la acción hormonal, clasificadas en grupos: digestivas (gastrina, secretina), renales (aldosterona, vasopresina), gonadales (testosterona, estradiol), metabólicas (adrenalina, insulina), etcétera.

El *anatómico-topográfico* (Fig. 12-6) las relaciona con los órganos y tejidos en que se producen. En algunos casos, como el de los procesos controlados por el *eje hipotálamo-hipofisario*, suele producirse un mecanismo en cascada (Fig. 12-7), de modo que, como respuesta a una señal, por ejemplo nerviosa, se produce en el hipotálamo una hormona específica estimulante (*liberina*) o inhibitoria de la producción, en la adenohipófisis, de otra hormona *trópica* específica. Esta hormona hipofisaria tiene, a su vez, como diana otro órgano o tejido endocrino, donde se libera la hormona que, finalmente, ejercerá la acción sobre las células o los tejidos específicos periféricos. Es frecuente que existan retrocontroles inhibitorios de una hormona respecto a la síntesis de la hormona anterior reguladora de su propia producción.

El *químico* busca la agrupación atendiendo a la naturaleza química de las moléculas hormonales: *a)* derivadas de aminoácidos (adrenalina, noradrenalina, tiroxina); *b)* de naturaleza peptídica, bien oligopeptídos (oxitocina, vasopresina), o bien péptidos, o proteínas (insulina, glucagón, calcitonina, hormona del crecimiento); *c)* de tipo lipídico, como las prostaglandinas o las hormonas esteroideas (glucocorticoides, mineralocorticoides, esteroides gonadales).

El *bioquímico*, por sus mecanismos moleculares de actuación, conduce a una primera división basada en la ubicación celular de los receptores implicados: membrana y citosólicos/nucleares. También considera la naturaleza de los segundos mensajeros y de las transformaciones originadas como consecuencia de la acción hormonal. En los apartados siguientes se examinarán algunas de las características moleculares de estos mecanismos.

12.6 EL SISTEMA DE LA ADENILATO CICLASA Y LA PROTEÍNA QUINASA A

Buena parte de las hormonas reconocidas por receptores transmembrana de 7 hélices opera por este mecanismo (Fig. 12-8), mediante el que la hormona, *primer mensajero extra-*

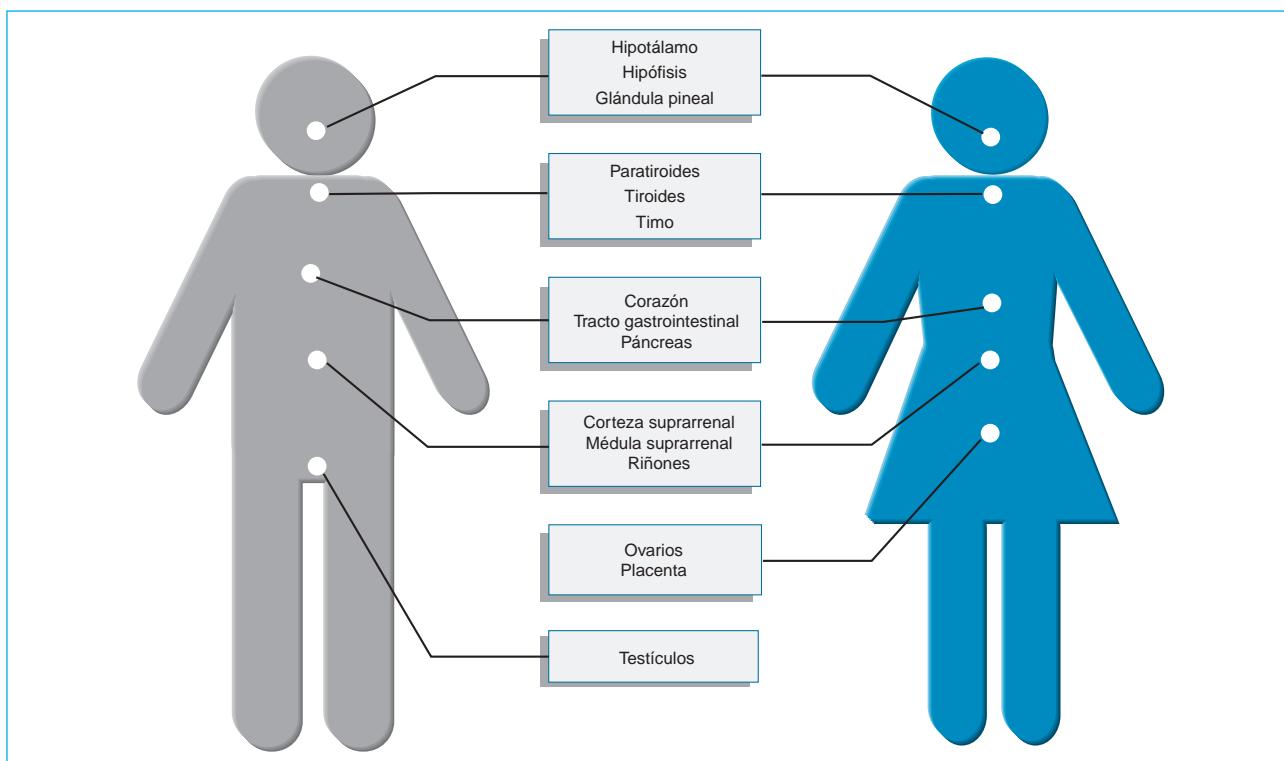


Figura 12-6. Algunos órganos endocrinos en los seres humanos. La producción de las hormonas se realiza en muy diversos órganos y tejidos humanos.

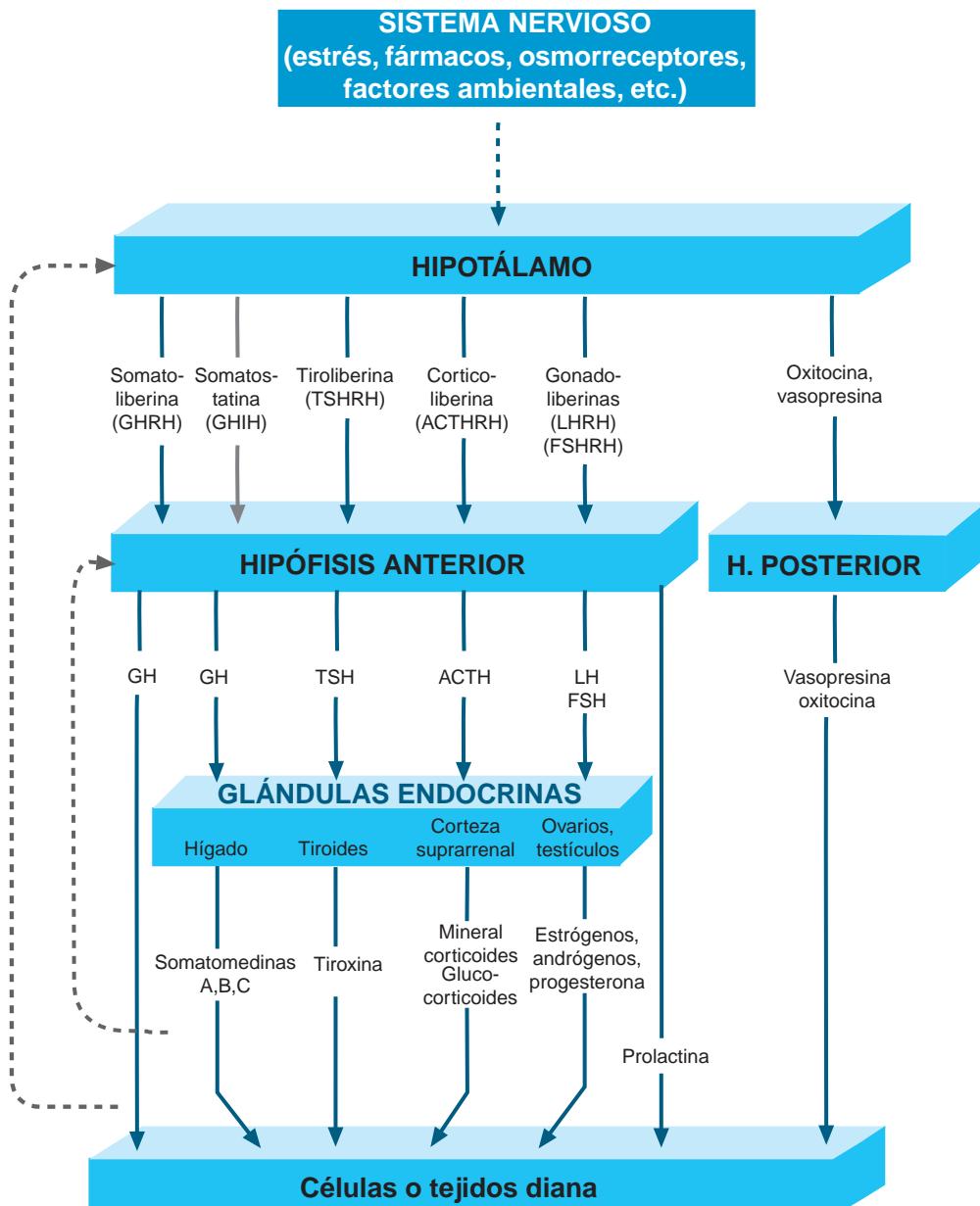


Figura 12-7. El eje hipotálamo-hipofisario y el sistema endocrino. Las liberinas hipotalámicas estimulan la producción de las hormonas trópicas hipofisarias que, a su vez, estimulan a las glándulas endocrinas. En el hipotálamo, también se producen hormonas (factores) inhibitorios (en gris). Son frecuentes las regulaciones retroinhibidoras (en gris discontinuo).

celular, da lugar a un *segundo mensajero* intracelular, el 3',5'-AMP cíclico, abreviadamente, AMPc (véase la Fig. 8-3), gracias a una serie de interacciones en la membrana en las que participan el *receptor hormonal*, el sistema de *proteínas G* y la enzima *adenilato ciclase*.

Existe una amplia familia de proteínas G de membrana, formadas por subunidades que constituyen heterotrímeros $\alpha\beta\gamma$. Entre las proteínas G asociadas a la estimulación de la adenilato ciclase, se distingue la subunidad $G\alpha$, con capacidad de enlace a los nucleótidos GDP (difosfato de guanosina) y GTP (trifosfato de guanosina) (estas estructuras pueden consultarse en el Cap. 8), así como las subunidades $G\beta$ y $G\gamma$ que actúan como intermediarios entre aquélla y el receptor hormonal.

En ausencia de la hormona, el receptor está libre, $G\alpha$ se encuentra unida a GDP y la adenilato ciclase está inactiva. Cuando la hormona se une al receptor, los cambios de conformación de éste y los que se inducen sobre $G\beta$ hacen que las subunidades β y γ se separen de $G\alpha$. Con ello, $G\beta$ deja de inhibir la $G\alpha$, lo cual posibilita que $G\alpha$ capte GTP del espacio intracelular, sustituyendo al GDP previamente unido, que se libera. La formación del complejo de $G\alpha$ con GTP es responsable de la activación de la enzima adenilato ciclase, situada en la membrana y, por tanto, de la producción intracelular de AMPc, a partir de ATP. En los mamíferos, la enzima adenilato ciclase comprende dos *cajas* transmembranales de seis motivos, con un dominio citosólico catalítico enlazable a ATP. Su K_m hacia el ATP es muy baja, por lo que la disponibilidad intracelular del ATP no suele ser problema para su actuación. En cualquier caso, la activación de la adenilato

ciclase está acotada temporalmente, ya que la subunidad $G\alpha$ -GTP expresa pronto una actividad GTPasa que, al hidrolizar el GTP, conduce a la forma inicial $G\alpha$ -GDP y, con ello, a la inactivación de las proteínas G y de la adenilato ciclase. Esto es muy conveniente para que la acción de una hormona se acote en el tiempo.

En cuanto al AMPc, generado por la adenilato ciclase, activa, a su vez, la enzima tetramérica proteína quinasa dependiente del AMPc, proteína quinasa A (PKA), de modo que, cuando las subunidades reguladoras se enlanzan a moléculas del AMPc, las subunidades catalíticas resultan activadas (Fig. 12-9). La PKA activa actúa sobre sustratos proteínicos importantes en procesos reguladores, catalizando la fosforilación de los aminoácidos alcohólicos serina y treonina, para lo que es necesario el suministro de energía y la cesión de un fosfato, ambas cosas realizadas merced al otro sustrato, el ATP, que se transforma en ADP. Otros sistemas enzimáticos también regulables, las proteínas fosfatases, catalizan la desfosforilación hidrolítica de las formas fosforiladas de las proteínas hasta sus formas desfosforiladas. Lo realmente importante es que el proceso fosforilación/desfosforilación suele ser responsable de la actividad (o no actividad) biológica de la proteína regulada.

La desactivación del AMPc por hidrólisis hasta 5'-AMP se催化iza por la enzima fosfodiesterasa, cuya actividad puede, a su vez, estar regulada por hormonas (insulina), iones (calcio) o metabolitos (cafeína, teofilina, etc.).

En resumen, con el mecanismo expuesto, la señal extracelular del primer mensajero, la hormona, se transduce y

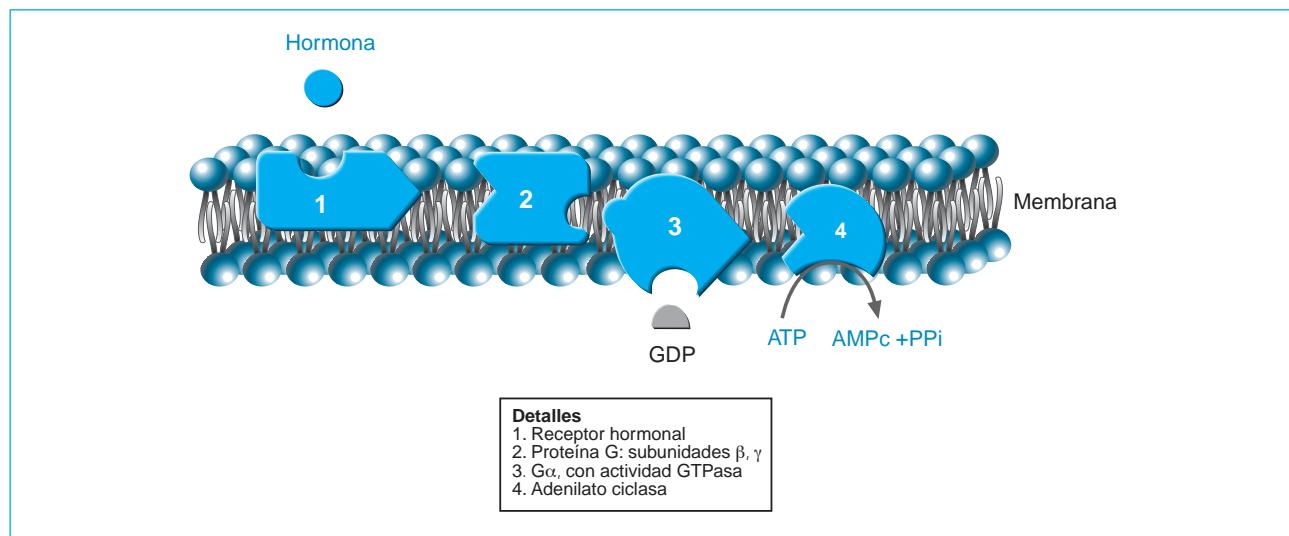


Figura 12-8. Acción hormonal mediada por la adenilato ciclase. $G\alpha$ consiste en dos hélices α que envuelven a la subunidad helicoidal β , que forma un dímero con γ . $G\alpha$ y $G\gamma$ se unen a la membrana por ácidos grasos. La activación del receptor provoca la disociación del heterotrímero a $G\alpha$ y $G\beta\gamma$, con lo que $G\alpha$ se disocia de GDP y se une a GTP. Un solo complejo hormona-receptor puede estimular el proceso en muchos heterotrímeros G.

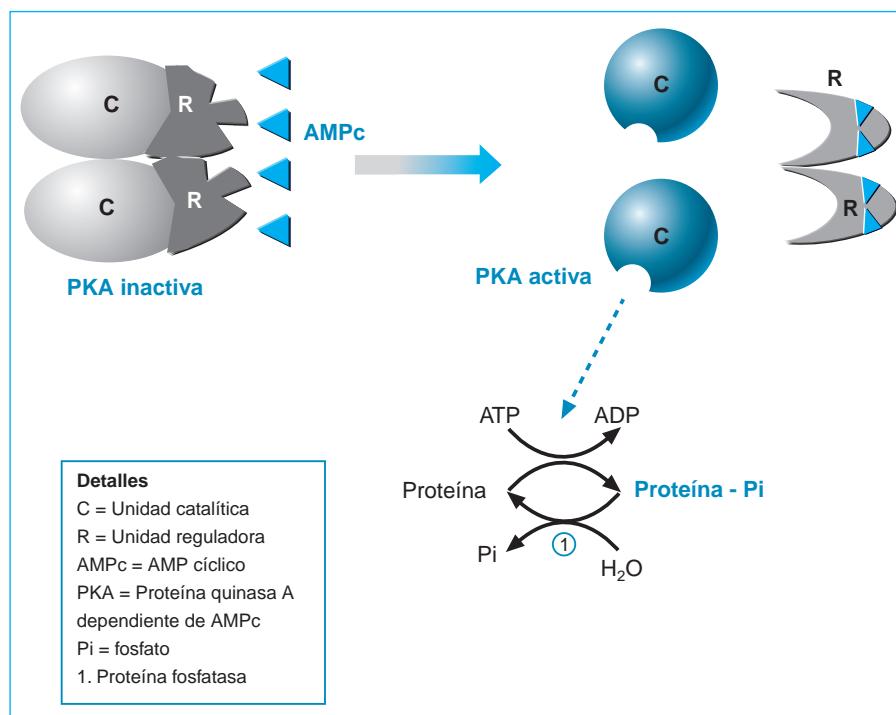


Figura 12-9. Activación de PKA por AMP cíclico (AMPc). PKA inactiva es un tetrámero con dos subunidades catalíticas y dos reguladoras. La unión del AMPc a las subunidades reguladoras disocia el complejo a dos subunidades catalíticas y un dímero, con las subunidades reguladoras unidas al AMPc.

amplifica en forma de otra señal intracelular, el AMPc o segundo mensajero, que es un nucleótido adenílico con estructura fosfodiéster, cuya actuación regula el grado de fosforilación y la actividad biológica de ciertas proteínas importantes (Fig. 12-10).

Algunas hormonas actúan sobre sistemas de proteínas G que, en lugar de activar, inhiben la adenilato ciclase, con lo que se enriquecen las posibilidades hormonales de control. Así, en el caso de la adrenalina, los receptores β -adrenérgicos son activadores, mientras que los α_2 -adrenérgicos son inhibitorios. Para aumentar estas amplias posibilidades de regulación, hay que destacar que, también los niveles del nucleótido 3',5'-

GMP cíclico, *GMPc*, están sujetos a mecanismos de control parecidos a los existentes para el AMPc, con la existencia, por tanto, de proteínas quinasas dependientes de GMPc, las *PKG*, de fosforilaciones, desfosforilaciones, etc. Este sistema tiene importancia por sí mismo para el control de algunos procesos fisiológicos, como la visión (véase el Cap. 33) y, sobre todo, para regular la relación o cociente de concentraciones AMPc/GMPc.

La relevancia de estos procesos es enorme, ya que la modificación covalente mediante fosforilación/desfosforilación de las proteínas y enzimas es uno de los sistemas más importantes que existen para controlar, tanto las enzimas

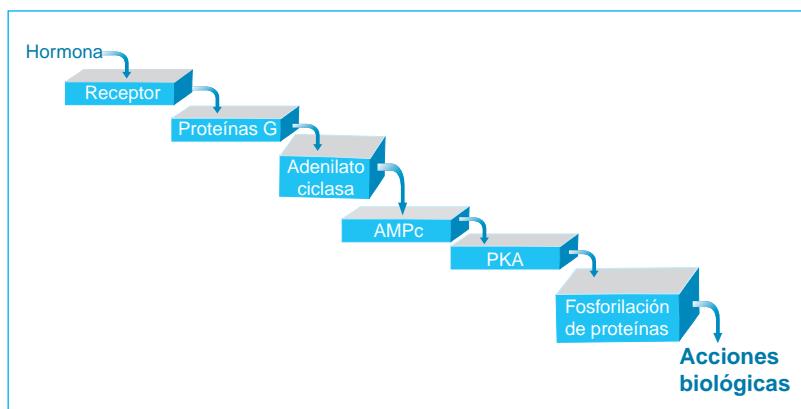


Figura 12-10. Cascada activadora hormonal mediada por la adenilato ciclase.

reguladoras de las grandes vías metabólicas, como las proteínas que gobiernan procesos celulares esenciales tales como diferenciación, crecimiento, multiplicación celular, control de apertura de los canales iónicos relacionados con la neurotransmisión, entre otros.

12.7 EL SISTEMA DE LA FOSFOLIPASA, FOSFATOS DE INOSITOL Y Ca^{2+}

Además de la ya descrita, existen otras posibilidades de regulación para diversas hormonas y factores de crecimiento que, también, son reconocidos por receptores transmembrana de siete hélices específicos, con el concurso de proteínas de tipo G, a través de la activación de la enzima fosfolipasa de las membranas celulares (Fig. 12-11). En las membranas se encuentra un sustrato de esta enzima, un fosfolípido que constituye entre el 2% y el 8% de los lípidos de las membranas, el 1-fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato, PIP_2 , que por acción de la enzima se convierte en diacilglicerol, DAG , y en inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3). El DAG liberado activa específicamente la *proteína quinasa C*, PKC , abundante en el cerebro, que puede estar en el citoplasma inactiva pero que, al activarse con DAG ,

queda unida a la membrana. Además, el DAG sirve, por su alto contenido en ácido araquidónico, como molécula precursora de la síntesis de prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos (véase el Cap. 6).

En cuanto al IP_3 , segundo mensajero, su papel es activar indirectamente otra proteína quinasa, la proteína quinasa dependiente de calmodulina, PkCaM , (Fig. 12-12), también reguladora de la fosforilación de importantes proteínas y enzimas. El IP_3 , liberado en el citoplasma, es reconocido por receptores específicos de la membrana del retículo endoplásmico y de las mitocondrias y, con la participación de proteínas de tipo G, presentes en esas membranas, facilita la liberación masiva hacia el citoplasma celular de grandes cantidades de iones calcio, previamente almacenados en esas reservas. Otros mecanismos conducen a la entrada en la célula de calcio extracelular, todo lo cual se traduce en un incremento muy notable de los niveles intracelulares citoplasmáticos del calcio (otro segundo mensajero) y en la activación de la PKCaM , *proteína quinasa dependiente de calcio*. Los mecanismos homeostáticos de regulación del calcio (véase el Cap. 35) finalizan la cascada de activación.

La ubicuidad e importancia biológica de las proteínas quinasa ha hecho que se acuñe el término quinoma para referirse a sus relaciones genéticas y papel biológico (Recuadro 12-2).

12.8 RECEPTORES INTRACELULARES

Otras hormonas más hidrofóbicas, como las del tiroides y las esteroideas, son capaces de atravesar la membrana plasmática e introducirse en el interior celular. También, en estos casos, existen receptores específicos, no de membrana, para estas hormonas, con localización citoplasmática o nuclear. Estos receptores se comportan como cofactores de transcripción (véase el Cap. 20), que se activan por su unión con la correspondiente hormona. Entre otros, existen receptores esteroideos específicos para glucocorticoides, mineralocorticoides, andrógenos, estrógenos y progestágenos.

El reconocimiento entre hormona y receptor produce, en cada caso, efectos variables, como polimerización, despolimerización, fosforilación, etcétera del receptor. El final de la secuencia de acontecimientos, algunos aún no aclarados, suele ser la regulación de la expresión de genes específicos, induciéndose o reprimiéndose la síntesis de alguna proteína. Entre las posibilidades existentes se incluye la regulación de ciertos factores de transcripción, mediante fosforilación/desfosforilación de ciertas enzimas que gobiernan la metilación/desmetilación de zonas concretas del ADN, lo que controla la expresión génica de tales zonas.

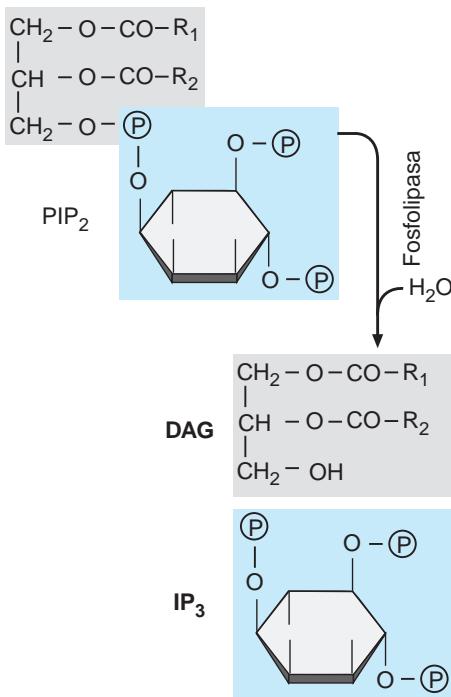


Figura 12-11. Acción de la fosfolipasa sobre el 1-fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP_2), produciendo diacilglicerol (DAG) e inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3).

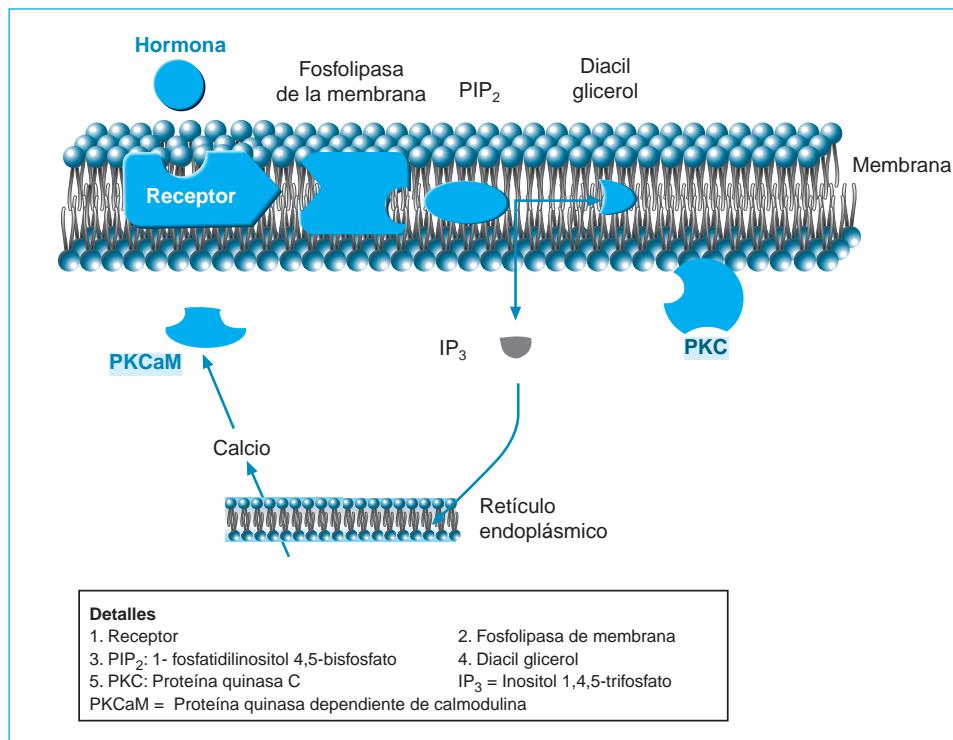


Figura 12-12. Mecanismo de acción hormonal a través de la fosfolipasa de membrana.

Recuadro 12-2. EL QUINOMA

Los procesos de la materia viva podríamos compararlos con una moderna y sofisticada instalación productiva de bienes o de servicios, con miles de conjuntos de procesos cuyo funcionamiento o inactividad deben coordinarse perfectamente, para lo cual, cada uno de ellos, dispone de un lector de tarjetas. Los supervisores poseen tarjetas individuales, con su número secreto identificativo, que le permiten, dependiendo de su grado de responsabilidad, poner en marcha o parar un proceso o conjunto de procesos. Cada dispositivo, en un momento dado puede tener dos alternativas: estar activo o inactivo y la actividad o inactividad, de que el lector de tarjetas reconozca a la tarjeta correspondiente y emita la orden correspondiente. Si todo el sistema opera coordinadamente, la instalación se amolda a las necesidades y

produce bienes o servicios, o ambos al ritmo adecuado, de acuerdo con lo programado y las necesidades. Si un dispositivo no responde al control previsto, aparecerán problemas, de mayor o menor entidad, que pueden agravarse, según sea o sean el dispositivo o dispositivos afectados. En casos extremos se producirá la interrupción de la producción, su muerte «biológica».

La naturaleza, desde hace millones de años, evolutivamente, viene desarrollando un sistema semejante al expuesto, pero mucho más complejo y perfecto. De acuerdo con el símil, los productos de la instalación serían las miles de acciones posibles de las células, órganos y tejidos: metabolismo y su control; crecimiento, multiplicación, especialización y vida celular; acciones de órganos y tejidos: contracción muscular, transmisiones nerviosas, envío de señales, producción de hormonas; crecimiento y desarrollo individual, etcétera.

Los dispositivos constitutivos de la instalación serían las proteínas. Posiblemente, un ser humano posee varios cientos de miles de proteínas diferentes y una buena parte de ellas controla procesos vitales para el desarrollo y la supervivencia: enzimas reguladoras del metabolismo (hasta un 30% del total), receptores proteínicos de hormonas y señales celulares; las propias señales celulares; control de que un gen se exprese o no; modificación de genes, favoreciendo o dificultando procesos de malignización, como el cáncer; y un largo etcétera. Muchas proteínas, a semejanza con los dispositivos de la instalación, pueden estar en dos situaciones biológicas: activas e inactivas. El control del lector de tarjetas, en la naturaleza, sería la fosforilación de las proteínas. La fosforilación o desfosforilación de algunas proteínas hace que éstas sean biológicamente activas o inactivas.

En la naturaleza, el papel activador de las tarjetas lo realizarían las proteínas quinasas. Por ello, para entender el funcionamiento de todos los procesos biológicos y sus desajustes, incluyendo la importante meta de conseguir vencer las enfermedades, es necesario conocer todas las circunstancias relacionadas con el número y la naturaleza de las quinasas (genes que las codifican, cómo se controlan estos genes, número de quinasas, cómo se clasifican, cómo se regulan, qué efectos producen, etc.). Todo ello dependerá, en gran medida, de los genes responsables, de esa parte impor-

tantísima del genoma que podríamos denominar QUINOMA, regulador de las quinasas, es decir, regulador esencial de todos los procesos vitales.

Por ello, se está desarrollando el denominado Proyecto Quinoma Humano, un detallado catálogo en el que ya se han incluido más de 500 genes diferentes de quinasas presentes en el genoma humano, de las que más de un centenar son casi totalmente desconocidas. Asimismo, se han establecido las familias biológicas de las diferentes quinasas, comparando las de los diferentes seres vivos, para poder predecir mejor

su función. Hay que tener en cuenta que algunas quinasas superactivas causan cánceres y que la participación de otras en multitud de procesos celulares, les hace ser idóneas como lugares de actuación en tratamientos de enfermedades, como diabetes, inflamaciones, osteoporosis o enfermedades oculares. Como ejemplo de aplicación positiva, e inicio de una nueva gama de medicamentos está la aprobación del uso de una molécula inhibidora de una quinasa, que ha comenzado a usarse en el tratamiento de la leucemia mieloide crónica.

12.9 HORMONAS, FACTORES DE CRECIMIENTO Y ONCOGENES

En los mecanismos hormonales considerados en este capítulo, siempre existe un reconocimiento por un receptor y una alteración molecular de éste, con el resultado de que se regulan ciertas proteína quinasas o factores de transcripción, que controlan procesos celulares de gran importancia.

Básicamente, acontecimientos muy semejantes a los anteriores son extensivos a otras moléculas, como los facto-

res de crecimiento, cuyos genes también suelen someterse a control hormonal. La acción final es que tengan lugar ordenadamente los complejos procesos relacionados con el crecimiento, la división y la proliferación celulares. Dada la coincidencia de los mecanismos involucrados, tal como se comprobará en los Capítulos 25, 27 y 29, existe una gran relación entre receptores (hormonales y de factores de crecimiento) y los genes que los codifican o que se relacionan con ellos: *protooncogenes* (oncogenes) y genes supresores de tumores.

RESUMEN

- Los organismos superiores utilizan estímulos eléctricos (sistema nervioso) y químicos (hormonas, sistema endocrino) para su comunicación intercelular, intertisular e interorgánica.
- Las hormonas juegan un papel esencial en el mantenimiento de la homeostasis, la disponibilidad energética y en diferentes programas cíclicos y de desarrollo.
- El papel de las hormonas es el de modular adecuadamente los procesos metabólicos preexistentes.
- Las hormonas son producidas en diferentes ubicaciones y pueden poseer diversas naturalezas químicas, pero se caracterizan por ser siempre reconocidas específicamente por receptores hormonales proteínicos situados en la membrana celular (hormonas que no pueden penetrar en las células) o en el interior celular (hormonas que atraviesan la membrana plasmática). Su unión con el receptor es mediante enlaces no covalentes.
- Las hormonas son el punto de partida de eficaces sistemas de transducción y extraordinaria amplificación de señales, cuya aplicación no queda restringida a los sistemas hormonales, sino que su diseño general es válido para otras señales reguladoras, como son los factores de crecimiento. Las hormonas que son reconocidas por receptores transmembrana de siete hélices actúan como un primer mensajero para conseguir un cambio conformacional en el complejo hormona-receptor, que se traduce, mediada por proteínas G, en la producción de segundos mensajeros (plasmáticos: AMP cíclico, inositol trifosfato, calcio; en la membrana: diacilglicerol).
- Los segundos mensajeros suelen activar proteína quinasas específicas, que actúan selectivamente fosforilando proteínas participantes en procesos biológicos esenciales.
- En el caso de los receptores intracelulares, su acción se relaciona con los factores de transcripción, regulando selectivamente la expresión de genes determinados.

EVALUACIÓN

1. (A). Mecanismos de acción hormonal:
 - a. Las hormonas pueden regular la actividad de una enzima, pero no la cantidad de la misma.
 - b. Lo que regulan es la cantidad de enzima, pero no su actividad.
 - c. Una hormona puede favorecer la síntesis de otra hormona, pero no disminuirla.
 - d. Una hormona puede disminuir la síntesis de otra hormona, pero nunca favorecerla.
 - e. Nada de lo anterior es cierto.

2. (B). Características generales de las hormonas:
 1. Es normal que se sinteticen en tejidos o glándulas específicas.
 2. Tras su producción siempre han de pasar a la circulación sanguínea para alcanzar sus lugares de acción.
 3. Inducen regulaciones metabólicas específicas en los órganos y tejidos sensibles (lugares diana o blanco).
 4. Químicamente, todas son muy parecidas.

a b c d e

3. (B). Las hormonas suelen provocar efectos relacionados con:
 1. La regulación de la biosíntesis de las enzimas.
 2. La modificación de la actividad catalítica de las enzimas.
 3. La alteración de la permeabilidad de algunas membranas celulares.
 4. Su generalizada actuación como enzimas, por sí mismas.

a b c d e

4. (C). Las acciones hormonales sobre el metabolismo suelen ser intensas PORQUE las hormonas hacen que se originen intracelularmente nuevas rutas metabólicas que, en su ausencia, no pueden existir.

a b c d e

5. (A). Estructura del AMP cíclico:
 - a. Posee una desoxirribosa.
 - b. Contiene un enlace 2',5'-fosfodiéster.
 - c. Tiene dos fosfatos por molécula.
 - d. En su molécula se encuentra un enlace 3',5'-fosfodiéster.
 - e. Es un componente normal del ADN, pero no del ARN.

6. (C). El AMPc activa a ciertas proteína quinasas PORQUE su fosfato se cede a las proteínas sustratos de las quinasas, convirtiéndose el AMPc en adenosina.

a b c d e

7. (A). Acción hormonal:
 - a. Las proteínas G se llaman así por ser grandes y solubles.

8. (B). La adenilato ciclase en mamíferos:
 1. Está asociada a las membranas celulares.
 2. Es tetramérica, con dos unidades catalíticas y dos reguladoras.
 3. La concentración intracelular de GTP puede afectar a su actividad.
 4. La acción hormonal se traduce en una solubilización de la adenilato ciclase de las membranas.

a b c d e

9. (A). Sistema del fosfatidil inositol:
 - a. Los receptores hormonales en este sistema suelen ser oncogenes.
 - b. Todas las proteínas son buenos sustratos de la PKC.
 - c. El IP₃ favorece la liberación de calcio desde el retículo endoplásmico.
 - d. La PKCaM se activa en las membranas celulares por la acción del diacilglicerol.
 - e. Todo lo anterior es falso.

10. (A). Receptores hormonales intracelulares:
 - a. Se corresponden a las hormonas de tipo más hidrofóbico.
 - b. Su localización preferencial es lisosomal.
 - c. Se conocen sólo los característicos de los de glucocorticoides.
 - d. Cuando reconocen a su hormona específica, su respuesta general es la de producir mutaciones en el ADN.
 - e. Son los únicos receptores que no poseen naturaleza proteica.

11. (A). Hormonas y factores de crecimiento:
 - a. Los dos términos se refieren a las mismas entidades moleculares.
 - b. Los factores de crecimiento suelen poseer receptores proteínicos específicos.
 - c. Todos los oncogenes conocidos corresponden a factores de crecimiento.
 - d. Los protooncogenes siempre codifican proteínas que actúan como receptores.
 - e. No existen factores de crecimiento cuya acción esté ligada al sistema del fosfatidilinositol bisfosfato.

BIBLIOGRAFÍA

- Benore-Parsons M, Sufka KJ: Teaching Receptor Theory to Biochemistry Undergraduates. *Biochem Mol Biol Educ* 2003; 31: 85-92.
- Carling D: The AMP-activated protein kinase cascade – a unifying system for energy control. *TiBS* 2004; 29: 18-24.
- Grutter T, Changeux JP: Nicotinic receptors in wonderland. *TiBS* 2001; 26: 459-463.
- Linder ME, Gilman AD: Proteínas G. *Inv y C* 1992; septiembre: 20-28.
- Luquain C, Sciorra VA, Morris AJ: Lysophosphatidic acid signaling: how a small lipid does big things. *TiBS* 2003; 28: 377-383.
- Marchese A, Chen C, Kim YM *et al*: The ins and outs of G protein-coupled receptor trafficking. *TiBS* 2003; 28: 369-376.
- Snyder SH: Base molecular de la comunicación intercelular. *Inv y C* 1985; diciembre: 100-111.
- Szeberényi J: Insulin Signaling. *Biochem Mol Biol Educ* 2002; 30: 322-323.
- Taylor CW, da Fonseca PCA, Morris EP: IP₃ receptors: the search for structure. *TiBS* 2004; 29: 210-219.

OBTENCIÓN Y APROVECHAMIENTO DE LA ENERGÍA

13.1 INTRODUCCIÓN

En los organismos aerobios como el ser humano, la energía se obtiene por la oxidación de los nutrientes y metabolitos hasta dióxido de carbono y agua. Incluso células con metabolismo anaerobio, como los eritrocitos, que convierten una molécula de glucosa en dos de lactato, completan este catabolismo en otras células, como las hepáticas, donde el lactato se cataboliza en condiciones aerobias hasta CO_2 y H_2O .

Del oxígeno que inspiramos, más de las dos terceras partes se utilizan en los procesos oxidativos mitocondriales. En la matriz mitocondrial se encuentran casi todas las enzimas del *ciclo de los ácidos tricarboxílicos*, *ciclo del ácido cítrico* o *ciclo de Krebs*, cuyo funcionamiento permite que dos átomos de carbono, en forma de acetilCoA, entren en cada vuelta del mismo y produzcan dos moléculas de CO_2 , acompañadas de la reducción de tres moléculas de NAD^+ hasta NADH , de un FAD flavínico hasta FADH_2 y de la fosforilación de una molécula de GDP hasta GTP.

Posteriormente, utilizando los complejos componentes de la *cadena respiratoria*, emplazados en la membrana interna mitocondrial, el oxígeno reoxida las coenzimas o grupos prostéticos reducidos, en un proceso muy exergónico, cuya energía se aprovecha metabólicamente para fosforilar moléculas de ADP hasta ATP (*fosforilación oxidativa*). En este capítulo se expondrá cómo, globalmente, por cada acetilCoA o fracción de dos átomos de carbono quemados en una vuelta del ciclo, se obtiene el equivalente a unos 10 ATP (9 ATP y 1 GTP).

13.2 CICLO DE LOS ÁCIDOS TRICARBOXÍLICOS

En la Figura 13-1 se muestra que el catabolismo de los hidratos de carbono, lípidos y proteínas confluyen hasta el esquema unificador del ciclo de los ácidos tricarboxílicos, la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa, cuya función básica es la obtención oxidativa de energía metabólica, en forma de compuestos de alta energía de hidrólisis. No obstante, el ciclo, por la capacidad de algunos de sus intermedios de convertirse en otros metabolitos, posee un papel más complejo que el simplemente catabólico.

Las aportaciones de científicos como Severo Ochoa y, sobre todo, Hans Krebs, permitieron, desde 1948, tener una idea global del funcionamiento del ciclo, de las enzimas participantes y de su localización intracelular, en la matriz mitocondrial, excepto la *succinato deshidrogenasa*, ubicada en la membrana interna mitocondrial.

Los aspectos más destacados del proceso, esquematizados en la Figura 13-2, son los siguientes:

1. Las reacciones catalizadas por la *citrato sintasa* y la *α -cetoglutarato deshidrogenasa* son muy exergónicas, las más irreversibles del ciclo, al que obligan a funcionar en el sentido de las agujas del reloj.
 2. La reacción catalizada por la *succinilCoA sintetasa* (nombre recomendado: *succinilCoA ligasa*), con hidrólisis del tioderivado, es suficientemente exergónica para que se acople a la fosforilación del GDP a GTP (*fosforilación a nivel de sustrato*).
 3. Prescindiendo de ello, la reacción global, para una vuelta del ciclo, es:
- $$\text{CH}_3 - \text{CO-SCoA} + 3 \text{ H}_2\text{O} + 3 \text{ NAD}^+ + 1 \text{ FAD} \Rightarrow \\ \Rightarrow 2 \text{ CO}_2 + \text{HSCoA} + 3 \text{ NADH} + 3 \text{ H}^+ + 1 \text{ FADH}_2$$
4. Las grasas (glicerol y ácidos grasos), los cuerpos cetónicos, los hidratos de carbono y los aminoácidos se pueden catabolizar a acetilCoA, metabolito de entrada del ciclo. Por ello, el ciclo es como una especie de *horno metabólico*, capaz de *quemar* y producir energía usando como combustibles a la mayor parte de los metabolitos.
 5. Como se verá en el próximo capítulo, existe la posibilidad de que el oxalacetato se convierta en fosfoenolpiruvato y éste, en piruvato, capaz de transformarse en acetilCoA.

Por ello, el ciclo puede actuar catabólicamente respecto a cualquier metabolito que se convierta en un intermedio del ciclo, siguiendo la ruta: metabolito \rightarrow intermedio del ciclo \rightarrow oxalacetato \rightarrow piruvato \rightarrow acetilCoA \rightarrow ciclo \rightarrow dióxido de carbono.

6. Análogamente, un metabolito transformable en intermedio del ciclo puede ser el punto de partida de procesos biosintéticos, lo que significa que el ciclo, al

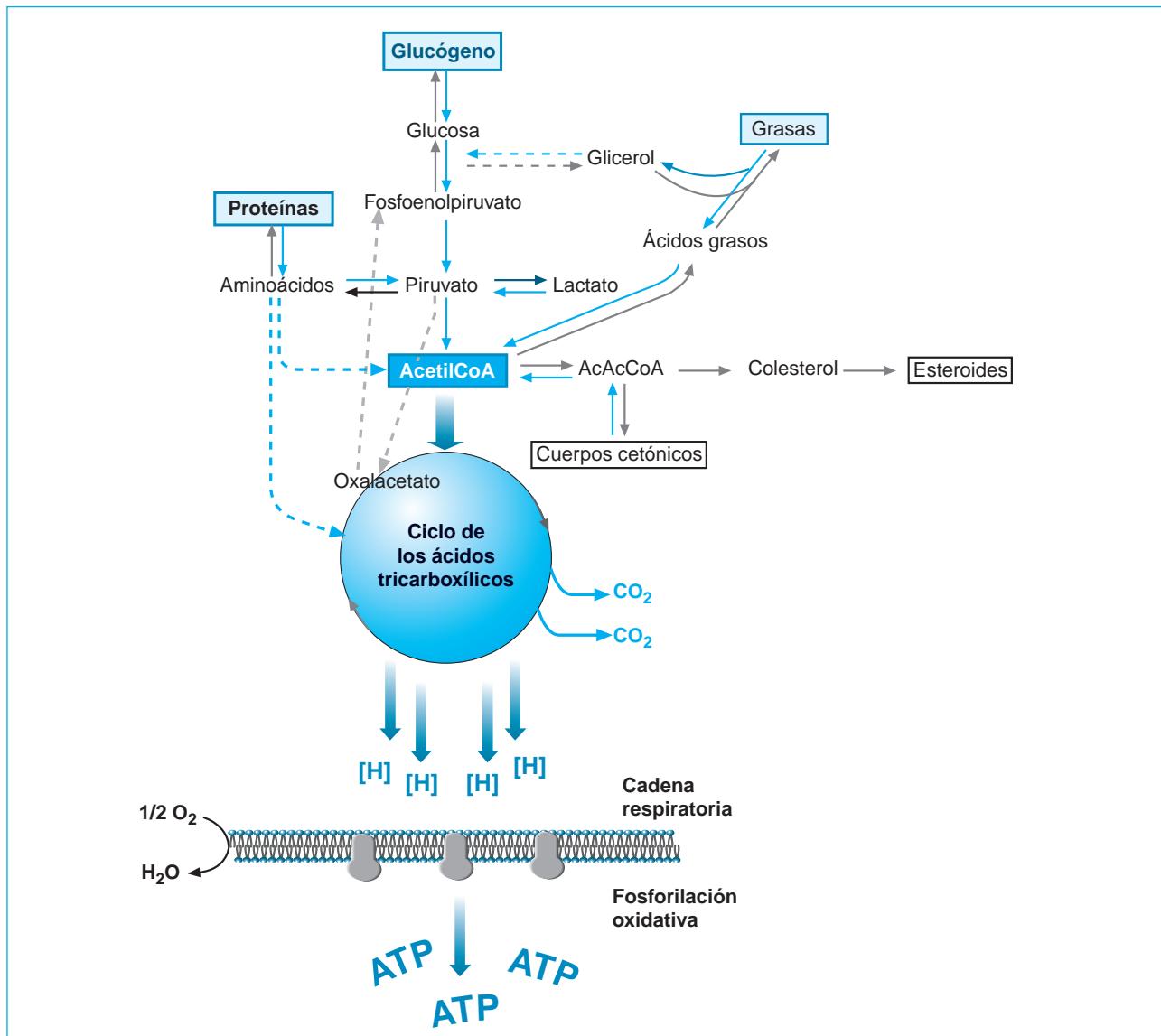


Figura 13-1. Convergencia metabólica en la obtención oxidativa de energía. En los animales y seres superiores, son posibles la mayor parte de las interconversiones metabólicas entre las proteínas (aminoácidos), los hidratos de carbono y las grasas, excepto la biosíntesis de varias biomoléculas esenciales (algunos aminoácidos, ácidos grasos poliinsaturados), así como la transformación de los ácidos grasos (acetilCoA) en hidratos de carbono (véase el Recuadro 13-1). Procesos anabólicos: flechas grises. Procesos catabólicos: flechas azules.

menos parcialmente, puede participar en procesos biosintéticos que conduzcan, entre otros, a ciertos aminoácidos o hidratos de carbono. Por tanto, existen etapas del ciclo *anfibólicas*, es decir, que pueden actuar, tanto en procesos anabólicos, como en catabólicos.

7. Las reacciones que reponen los intermediarios del ciclo a partir de precursores, ayudando a su mejor funcionamiento, se llaman *anapleróticas*. Entre las mismas, citaremos las catalizadas por la *piruvato carboxilasa* (véase el Cap. 14), que carboxila piruvato hasta oxalacetato, o por la *enzima málica*, que tam-

bién realiza una carboxilación, esta vez reductora, desde piruvato hasta malato, usando NADPH.

8. El factor más limitante del ciclo en los seres humanos es la cantidad de oxalacetato en nuestro organismo (tan sólo unos 50 μmol en total). Teniendo en cuenta el consumo total de oxígeno por la cadena respiratoria, ello significa que el oxalacetato (y con él, el ciclo) opera unas 100 veces por minuto.
9. El ciclo está sometido a la retroregulación por NADH y ATP, que inhiben, tanto la *isocitrato deshidrogenasa*, como la *α -cetoglutarato deshidrogenasa*.

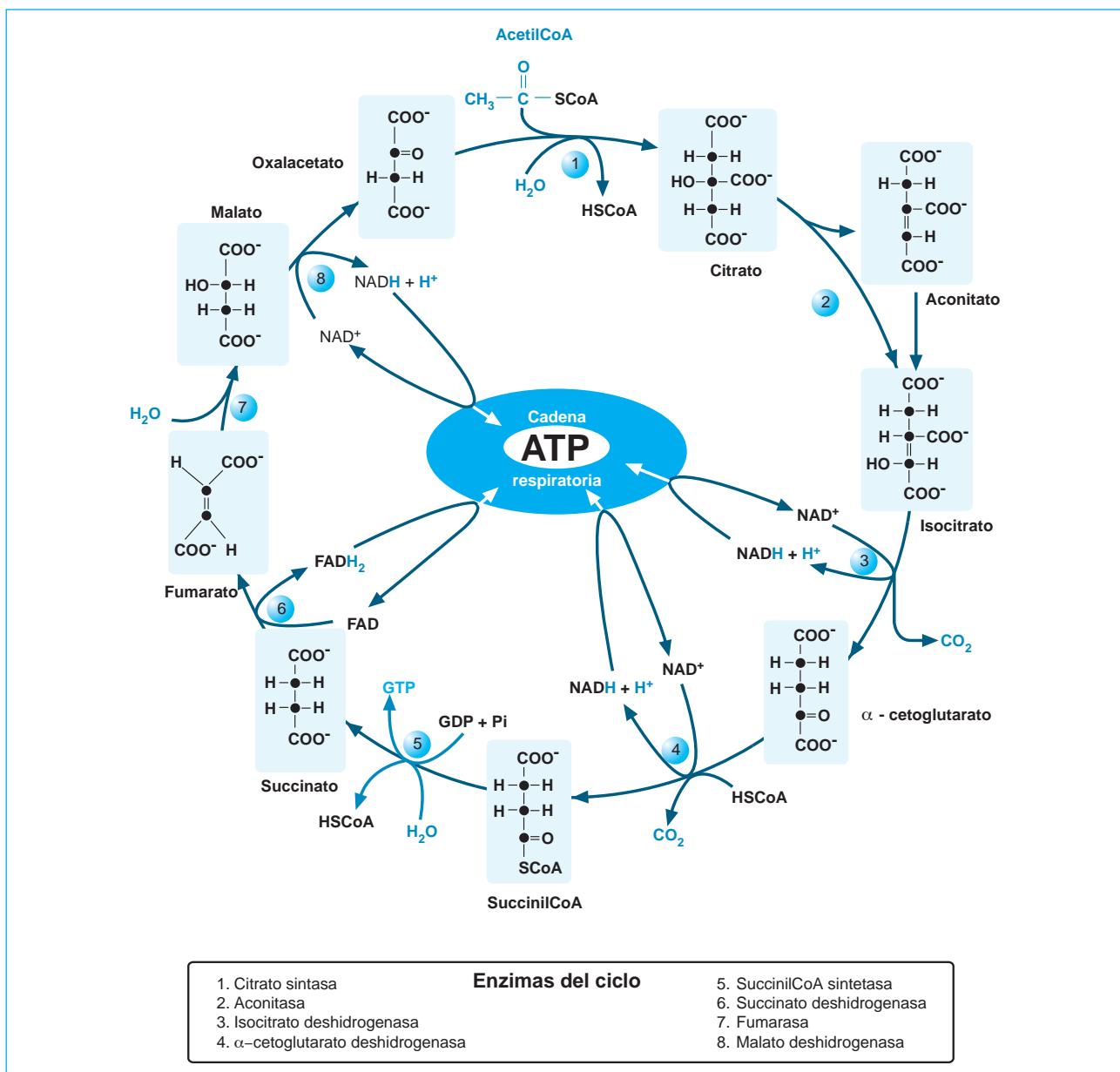


Figura 13-2. Ciclo del citrato. En cada vuelta del ciclo entran dos átomos de carbono como acetilCoA y salen oxidados, en forma de dos moléculas de dióxido de carbono. A cambio, se reducen 3 moléculas a NADH y 1 a FADH₂.

El oxalacetato bloquea las transformaciones de succinilCoA a succinato y de succinato a fumarato. Por otra parte, la *citrato sintasa* se inhibe de forma alóstérica por citrato y ATP, mientras que la acetilCoA incrementa la K_m hacia el sustrato.

10. Diversas sustancias pueden inhibir el ciclo. El *fluorocítrato*, presente en las hojas de algunas plantas venenosas, bloquea la *aconitasa*. También lo hace el *fluoracetato*, tras su conversión metabólica a fluorocítrato. Las sales de arsénico, en especial los *arsenitos*, inhibi-

ben el complejo enzimático *α -cetoglutarato deshidrogenasa*. El *malonato* es un potente inhibidor de la respiración celular, porque bloquea la *succinato deshidrogenasa*, debido a su semejanza con el sustrato.

La incapacidad de los seres superiores de convertir las fracciones de dos átomos de carbono (acetilCoA) en compuestos de 3 ó 4 átomos de carbono, precursores de los hidratos de carbono y otras moléculas, la resuelven muchas bacterias y plantas a través del ciclo del glioíxilato (Recuadro 13-1).

Recuadro 13-1.
EL CICLO DEL GLIOXILATO

Diversos microorganismos y plantas pueden usar como fuente carbonada el acetilCoA, ya que cuentan con una vía metabólica propia, el ciclo del gioxilato, que les permite introducir dos moléculas de acetilCoA por cada vuelta del ciclo, transformándolas en una molécula de succinato (Fig. 13-3). En las plantas, el ciclo transcurre en unos orgánulos denominados gioxisomas.

El acetilCoA puede ser sintetizado por las bacterias y plantas mediante la enzima *acetilCoA sintetasa* (o *acetilCoA ligasa*):



La hidrólisis del pirofosfato hace que la reacción global sea bastante exergónica y el equilibrio se desplace hacia la formación del acetilCoA.

Las dos primeras etapas del ciclo del gioxilato son análogas a las correspondientes del ciclo del citrato, catalizadas por *citrato sintasa* y *aconitasa*. Las dos siguientes etapas necesitan de las enzimas específicas, *isocitrato liasa* (para desdoblar el isocitrato a succinato y gioxilato) y *malato sintasa*, que condensa el gioxilato con una nueva molécula de acetilCoA, para producir malato

que cierra el ciclo hasta oxalacetato mediante la *malato deshidrogenasa*, también presente en el ciclo del citrato.

Desde el punto de vista energético, la conversión de dos acetatos hasta succinato necesita el equivalente a cuatro enlaces ricos en energía de hidrólisis, ya que el pirofosfato formado en la actuación de *acetilCoA sintetasa* se hidroliza mediante la *pirofosfatasa*.

Entre otros destinos, el succinato, mediante otras enzimas del ciclo del citrato y la gluconeogénesis (véase el Cap. 14) puede convertirse en hidratos de carbono, lo que dota de grandes posibilidades metabólicas a los organismos que cuentan con el ciclo del gioxilato.

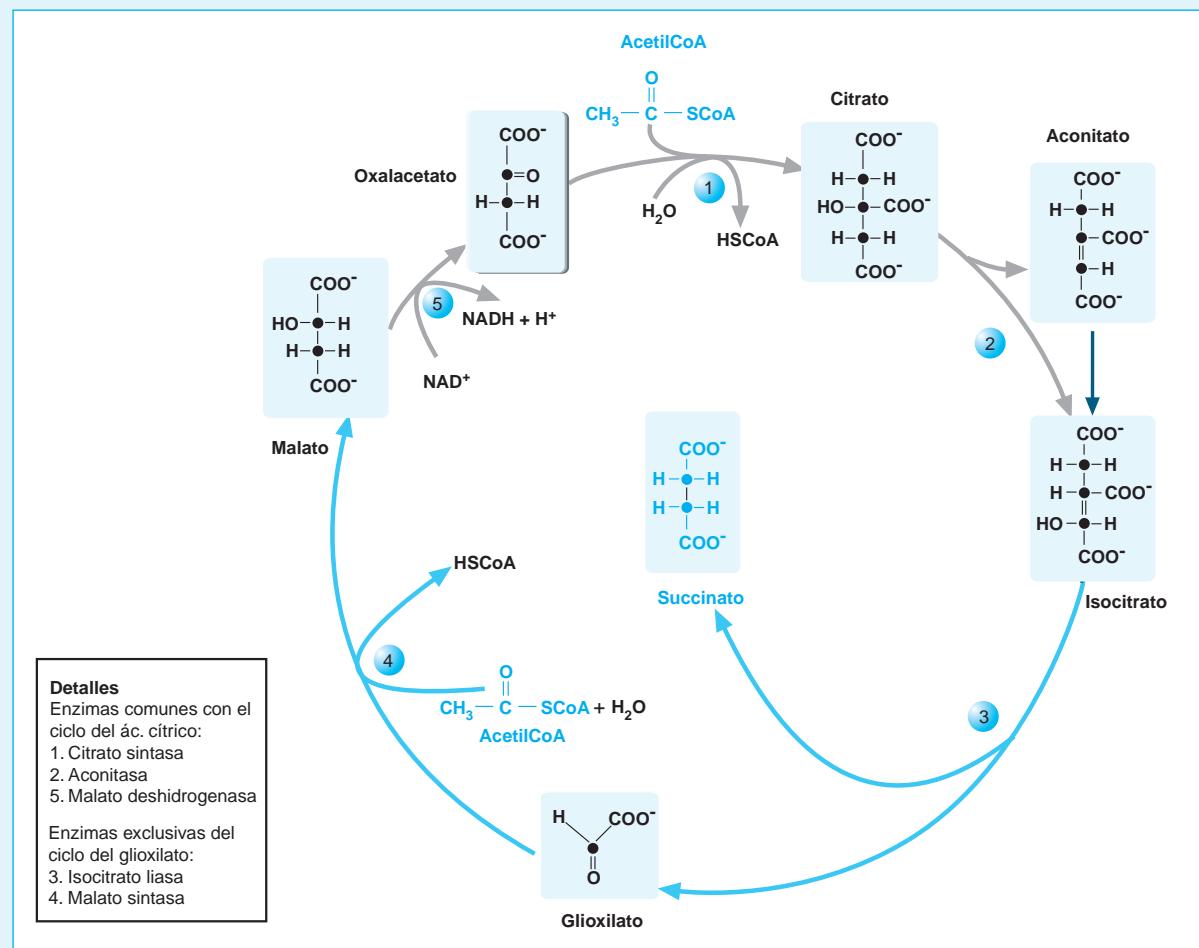


Figura 13-3. Ciclo del gioxilato. Con la participación de tres enzimas comunes con el ciclo del citrato y otras dos exclusivas del ciclo del gioxilato, el acetilCoA se transforma en succinato, con lo que las plantas y diferentes microorganismos pueden crecer con el suministro de acetato.

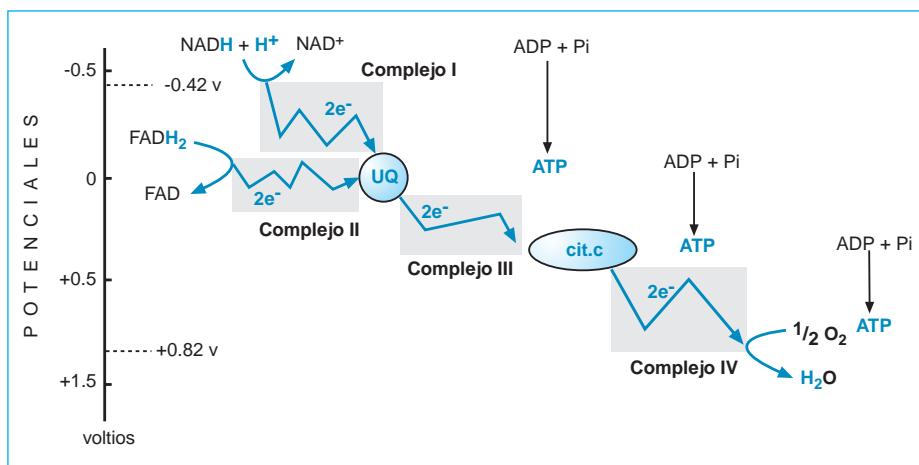


Figura 13-4. Esquema energético de los potenciales en la cadena respiratoria. El gran potencial exergónico del proceso se divide en múltiples etapas, agrupadas funcionalmente en los correspondientes complejos.

13.3 LA CADENA RESPIRATORIA TRANSPORTADORA DE ELECTRONES

Una vez reducidos las correspondientes coenzimas y grupos prostéticos por el ciclo de los ácidos tricarboxílicos, inmediatamente deben reoxidarse, pues si ello no ocurriese, dada su baja concentración intracelular, se agotarían y se bloquearía el ciclo. La reoxidación la realiza el oxígeno, en una serie sucesiva de etapas de componentes variados, de los cuales la mayor parte corresponde a proteínas localizadas en la membrana interna mitocondrial de las células eucarióticas: la *cadena respiratoria*.

El potencial redox del sistema $NAD^+/NADH$ es de -0.32 voltios, y el del sistema $\frac{1}{2}O_2/O=$ de +0.82 voltios, lo que significa (véase el Cap. 4) un gran cambio exergónico de energía estándar de -200 kJ por mol (Fig. 13-4). Para conseguir su aprovechamiento biológico, el proceso redox transcurre en pequeños saltos, agrupándose los diferentes constituyentes en complejos situados en la membrana interna mitocondrial (Tabla 13-1).

Al complejo I, *NADH-ubiquinona oxidoreductasa*, le aportan los equivalentes de reducción las deshidrogenasas del ciclo de Krebs dependientes de NAD^+ (*isocitrato deshidrogenasa*, α -cetoglutarato deshidrogenasa y *malato deshidrogena-*

Tabla 13-1. Componentes de los complejos de la cadena respiratoria

Complejo	Subunidades (aprox.)	Tamaño (aprox.) kDa	Algunos cofactores	Diferencia Potencial (mV)	Protones bombeados	ATP producible
I. NADH-ubiquinona oxidoreductasa	35	880	FMN FeS	420	4	1
II. Succinato ubiquinona oxidoreductasa	4	140	FAD FeS Cit. b	113	—	—
III. Ubiquinona-citocromo c oxidoreductasa	10	250	FeS Cit. b ₅₆₂ Cit. b ₅₆₆ Cit. c ₁	260	2	0.5
IV. Citocromo c oxidasa	10	160	Cit. a Cit. a ₃ Cu Zn	550	4	1

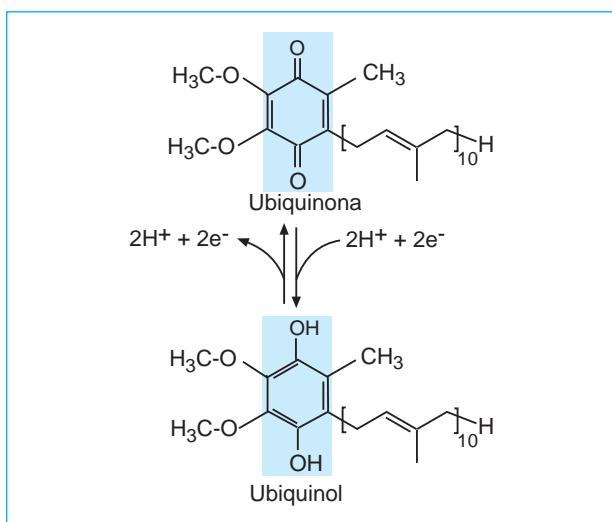


Figura 13-5. Equilibrio redox entre ubiquinona (forma oxidada) y ubiquinol (forma reducida). No se muestra el intermedio aniónico semiquinonato (UQ^-).

nasa), u otras relacionadas con el catabolismo de los hidratos de carbono y aminoácidos (*gliceraldehído 3-P deshidrogenasa*, *piruvato deshidrogenasa*) o con el metabolismo de los lípidos (3-hidroxiacilCoA deshidrogenasa). En el complejo I participan diversas proteínas, sulfoferroproteínas y flavoproteínas. Los equivalentes de reducción sirven para reducir una molécula lipídica de la membrana, la *ubiquinona* (coenzima

Q, Fig. 13-5), hasta *ubiquinol*. La diferencia global de potencial redox es de unos 420 mV, equivalentes a unos -80 kJ/mol , suficientes para acoplarse a la síntesis de un ATP. La ubiquinona puede moverse libremente en la membrana, pudiendo también recoger los equivalentes de reducción del complejo II, *succinato-ubiquinona oxidoreductasa*, procedentes de la FADH_2 de la *succinato deshidrogenasa* del ciclo. Los equivalentes de reducción también pueden proceder de la flavoenzima *acilCoA deshidrogenasa* del catabolismo de los ácidos grasos (véase el Cap. 15). El complejo II contiene sulfoferroproteínas y un citocromo b_{560} . Los citocromos son un grupo de proteínas que poseen grupos hemo (véase el Cap. 27), así como átomos de hierro cuyo estado de oxidación, ferroso o férrico, hace que puedan participar en la transmisión de los equivalentes de reducción. El potencial estándar de reducción del proceso catalizado por el complejo II es menor de -25 kJ/mol , lo que no permite que se acople a la síntesis de ATP.

El ubiquinol, a su vez, cede sus equivalentes de reducción al complejo III, *ubiquinona-citocromo c oxidoreductasa*, multi-proteico, en el que participan varios citocromos de las clases b y c. El *citocromo c* es una pequeña proteína periférica de membrana, capaz de difundirse en la membrana y facilitar la recepción y transferencia de electrones, poniéndose en contacto con el complejo IV, *citocromo oxidasa*, que también posee varias subunidades y citocromos de tipo a y a_3 , y un centro activo con cobre, siendo el oxígeno el acceptor final de los electrones. Un esquema global del proceso se muestra en la Figura 13-6.

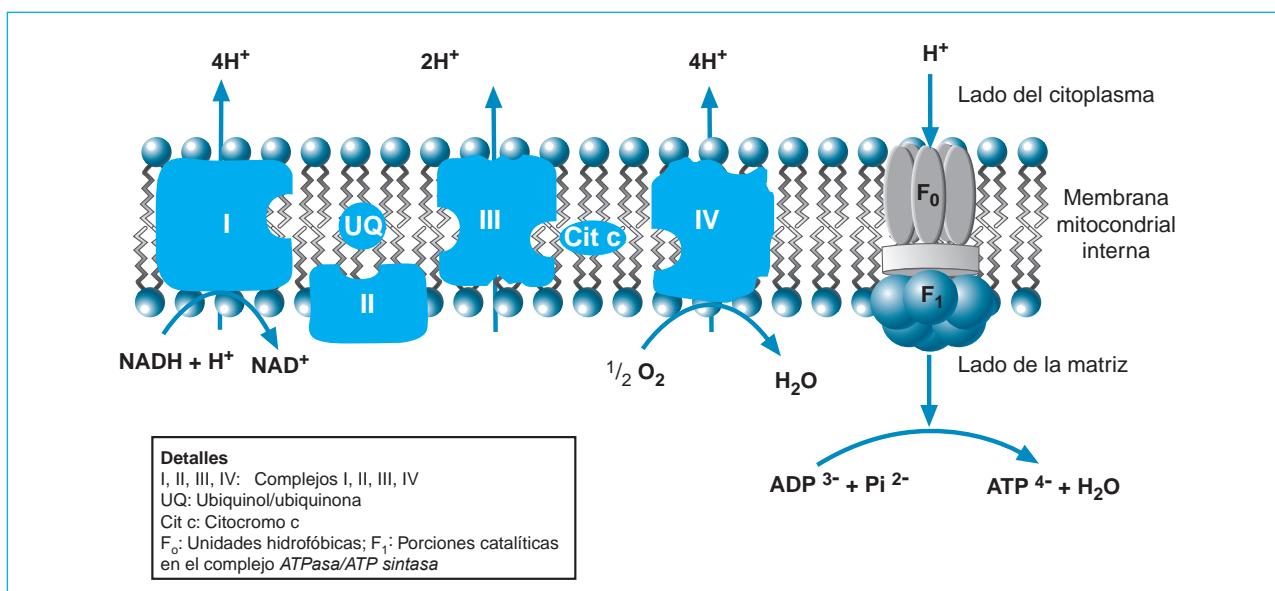


Figura 13-6. Esquema del funcionamiento de los complejos de la cadena respiratoria, de acuerdo con la teoría quimiosmótica. El flujo electrónico produce un bombeo de protones hacia el exterior mitocondrial, mientras que la ATPsintasa consume esos protones citoplasmáticos para posibilitar la formación de ATP.

13.4 FOSFORILACIÓN OXIDATIVA. TEORÍA QUIMIOSMÓTICA

Históricamente, diversas hipótesis habían planteado la existencia de intermedios químicos o cambios de conformación para explicar cómo efectúan las células la fosforilación oxidativa. A principios de la década de 1960, el británico Peter Mitchell sugirió una hipótesis, hoy ampliamente aceptada (*teoría quimiosmótica*, Fig. 13-6), basada en los siguientes puntos:

1. La membrana interna mitocondrial es impermeable a iones, como los protones y los hidroxilos. Este hecho es básico para poder crear la fuerza protonmotriz responsable de la síntesis del ATP.
2. El flujo redox a través de los intermedios de la cadena respiratoria, ubicados en la membrana interna, produce, secundariamente, un flujo de protones dirigido desde la matriz mitocondrial hacia el espacio intermembranas. Por tanto, al operar la cadena respiratoria mitocondrial, se origina una diferencia de concentración de protones a ambos lados de la membrana interna, con acumulación externa, es decir, una diferencia de pH expresable como un *potencial químico*. En células metabólicamente activas, la diferencia de pH es, aproximadamente, de 1 unidad (pH 8, en la matriz mitocondrial y pH 7, en la región intermembranas o en el citoplasma). Simultáneamente, la diferencia de cargas a ambos lados de la membrana se traduce en una

diferencia de *potencial eléctrico* de unos 0.14 V. La suma de ambos potenciales es la *fuerza protonmotriz o electroquímica*, evaluable en unos 21 kJ/mol H⁺.

3. Aunque persisten ciertas controversias al respecto, los datos experimentales indican que, por cada pareja de electrones, el funcionamiento de los complejos I y IV supone la salida de la mitocondria, en cada caso, de cuatro protones, y de sólo dos protones si se considera el complejo III (Fig. 13-6).
4. Para llevar a cabo la fosforilación del ADP, la *ATP sintasa* utiliza la fuerza protonmotriz, mediante mecanismos complejos. En todo caso, a pH fisiológico, las ionizaciones de los fosfatos correspondientes permiten expresar la síntesis del ATP, aproximadamente como sigue:



por lo que, con una disposición espacial, como la recogida en la Figura 13-6 para la *ATP sintasa*, la acumulación de protones hacia fuera de la membrana interna hará que se favorezca, por la ley de acción de masas, el sentido de la obtención de ATP.

La utilización de un gradiente de potencial, a través de una cadena transportadora de electrones para generar ATP mediante una fosforilación, no es un proceso único de las mitocondrias. En las reacciones luminosas de la fotosíntesis podemos encontrar una gran analogía (Recuadro 13-2).

Recuadro 13-2. LOS FOTOSISTEMAS

Las mitocondrias y los cloroplastos presentan muchas similitudes: dos membranas, la externa e interna, con propiedades parecidas de permeabilidad para la externa, y de impermeabilidad, para la interna; semejanzas estructurales y funcionales entre la *matriz interna mitocondrial* y su traducción cloroplástica, el *estroma*; material genético propio, con algunas grandes similitudes, como es el caso de sus ribosomas; y, lo que más nos interesa en este apartado, la existencia de componentes asociados en forma de cadenas transportadoras de electrones.

Entre las diferencias a destacar están el tamaño (los cloroplastos suelen ser mayores) y que los cloroplastos presentan una nueva estructura membranosa, la

membrana tilacoide, con formas discordes denominadas *grana*. Cada *grana* consta de un apilamiento de vesículas aplanadas. La *lamela del estroma* es la membrana tilacoide que une a los grana. Como es en la membrana mitocondrial donde se van a situar los componentes de las cadenas redox fotosintéticas, comparando con lo que ocurría con la membrana interna mitocondrial, el lado de la matriz mitocondrial correspondería al lumen del tilacoide y el espacio intermembrana mitocondrial al estroma.

Las plantas, algas y bacterias fotosintéticas captan químicamente la energía lumínosa a través de la fotosíntesis, un proceso con el que se consigue fijar el dióxido de carbono para producir hidratos de carbono. En la fase lumínosa del proceso, intervienen dos *photosistemas* que utilizan el poder reductor

generado por la oxidación del agua, impulsada por la luz para producir NADPH. El fotosistema II, *FS II*, es un complejo manganésico de proteínas-pigmentos, que atraviesa la membrana con más de 20 componentes, en los que juegan un papel crucial las moléculas de clorofila, P680, que absorben luz a 680 nm. El *photosistema I*, *FS I*, también es otro complejo similar de proteínas-pigmentos, en los que la absorción lumínosa se realiza a 700 nm. La absorción de los fotones excita a electrones que se pueden desplazar a aceptores de electrones adyacentes. Los centros de reacción de estos fotosistemas están rodeados de complejos captadores de luz, compuestos de diversos tipos de clorofila y carotenoides que absorben eficazmente la luz visible y transfieren la energía a los centros de reacción.

Las complejas transformaciones que tienen lugar en el complejo FS II (complejo inicial, como el complejo I mitocondrial) (Fig. 13-7) provocan la fotólisis del agua, generándose una molécula de oxígeno, cuatro protones y cuatro electrones. Los electrones, pasan al centro de reacción, que absorbe fotones y a lo largo de una cadena transportadora de electrones, reducen la *plastoquinona* (PQ, una molécula químicamente parecida a la ubiquinona mitocondrial) a plastoquinol que, a su vez, los transfiere al complejo citocromo bf (complejo intermedio, como el complejo III mitocondrial). El cit bf transfiere los electrones a la *plastocianina* (PC), una proteína soluble que contiene cobre (en comparación con la cadena respiratoria mitocondrial, equivaldría al cit c). Desde la PC, los electrones llegan al pigmento fotooxidado del FS I, donde la nueva excitación luminosa libera electrones que llegan a través de diferentes intermedios redox hasta la *ferredoxina* (Fd), con gran poder reductor, de modo que con la *ferredoxina-NADP⁺ reductasa* se reduce NADP⁺ a NADPH.

El flujo electrónico a lo largo de las cadenas redox provoca un gradiente de protones, a través de la membrana tilacoidal hacia el lumen del tilacoide (polaridad cambiada, en comparación con el ejemplo mitocondrial), que pueden provocar que la ATP sintasa, también presente en la membrana tilacoidal, produzca ATP (en el lado del estroma).

Cuando la relación NADPH/NADP⁺ es elevada, por lo que no es oportuno que continúe el proceso reductor, los electrones, desde la ferredoxina, pueden regresar, a través de una cadena transportadora electrónica, hasta el complejo cit bf, por lo que, en este caso, *fotofosforilación cíclica*, la producción del gradiente protónico no va acompañada ni de la reducción hasta NADH, ni de la producción de oxígeno.

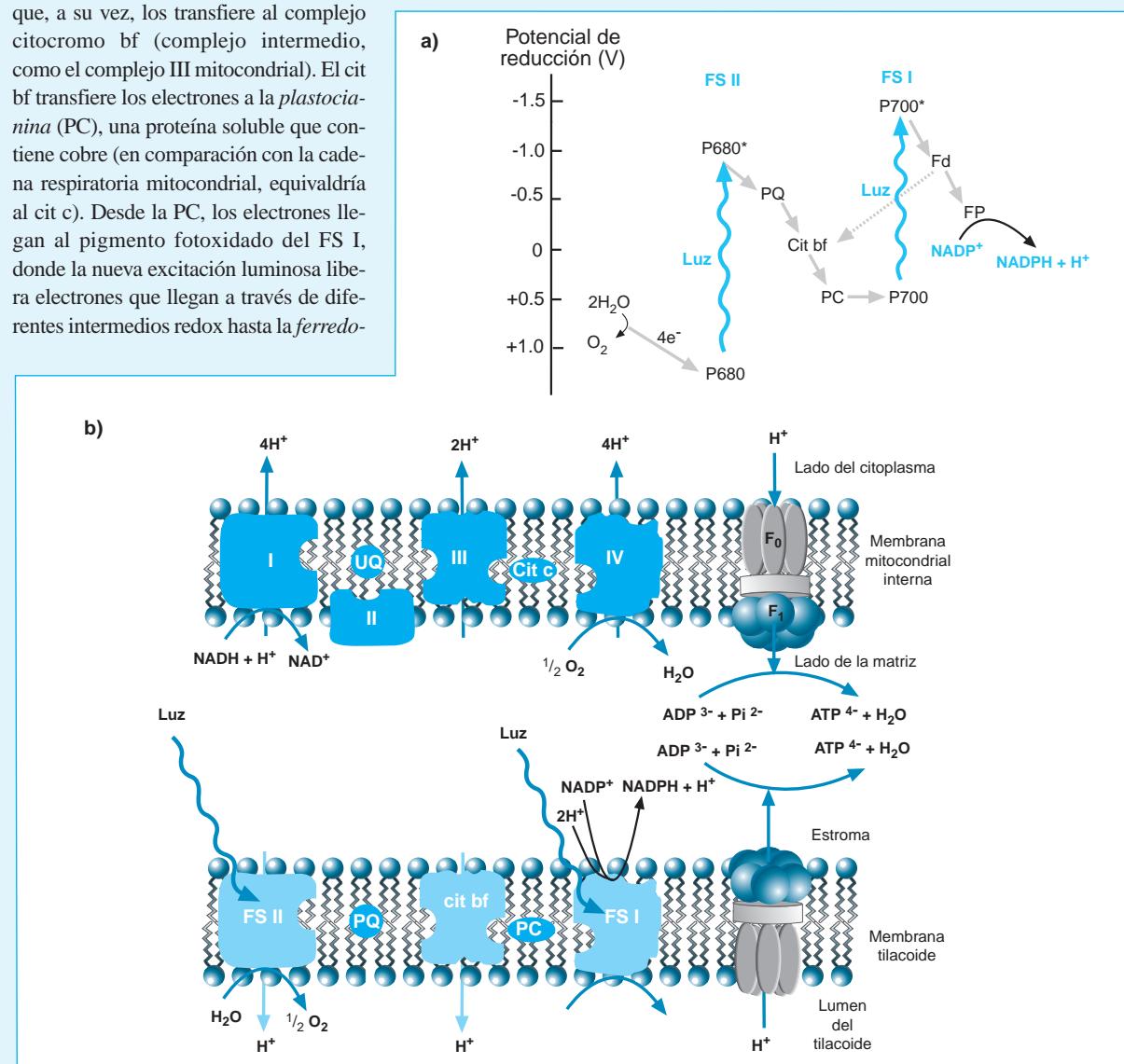


Figura 13-7. a) Esquema energético de conexión entre los fotosistemas. b) Modelo simplificado de similitudes entre los procesos energéticos mitocondriales y cloroplásticos.

13.4.1 Desacopladores e inhibidores

Los inhibidores de la cadena respiratoria bloquean su funcionamiento en lugares específicos, paralizando la transferencia electrónica y la fosforilación oxidativa. El uso de diversos inhibidores ha resultado muy útil para dilucidar los componentes y el funcionamiento de la cadena respiratoria. Así, el insecticida *rotenona* inhibe el complejo I, mientras que el antibiótico *antimicina* actúa sobre el complejo II, y compuestos tan tóxicos como el *cianuro*, la *azida sódica*, el *ácido sulfídrico* y el *monóxido de carbono* bloquean eficazmente la citocromo oxidasa, al formar un complejo con el hierro citocrómico (Recuadro 13-3).

Por otra parte, los desacopladores disminuyen el rendimiento de ATP obtenido por átomo consumido de oxígeno. Así ocurre con la acumulación de ácidos grasos, el dicumarato o el 2,4-dinitrofenol, que disipan la fuerza protonmotriz, como si permeabilizasen la membrana interna mitocondrial hacia los protones, con la consecuencia de una menor producción de ATP, aunque se incrementa la velocidad de la cadena respiratoria, disipándose una mayor cantidad de energía en forma de calor. Desde el punto de vista fisiológico,

este proceso ocurre naturalmente en el tejido adiposo pardo o marrón, rico en mitocondrias desacopladas, en las que tiene lugar una termogénesis útil en ciertas ocasiones, como en el período de hibernación del oso pardo, para mantener una adecuada temperatura corporal con unas mínimas necesidades de producción de ATP.

Ciertas dietas adelgazantes poco controladas contienen dosis peligrosas de sustancias desacopladoras, como la hormona tiroxina. Cuando las células se malignizan, también se incrementa el desacoplamiento. Hay descritas diversas enfermedades asociadas a un desacoplamiento mitocondrial (Recuadro 13-4).

13.4.2 Control del proceso

La fosforilación oxidativa se regula de forma muy precisa por los valores de las relaciones NADH/NAD⁺ y ADP/ATP, por la presión parcial de oxígeno y por el gradiente de pH, de modo que, al incrementarse esos valores, aumenta la velocidad del proceso. Por otra parte, el que el ATP producido en una célula no sea transportable a otra hace, que todas las células con requerimientos energéticos importantes suelan

Recuadro 13-3. SUSTANCIAS ASFIXIANTES

Los átomos de hierro que participan en el grupo hemo pueden unirse a otros pequeños ligandos que bloqueen su enlace con el oxígeno y, por tanto, interfieran su papel fisiológico de transportador de oxígeno en la hemoglobina, o de consumo de oxígeno, a través del citocromo c de la cadena respiratoria.

Esos ligandos son llamados sustancias asfixiantes, ya que ocasionan una hipoxia tisular que provoca la aparición de importantes síntomas neurológicos y cardiovasculares que pueden comenzar con dolor de cabeza, fatiga, cansancio y náuseas, derivables en disnea, alteraciones mentales, isquemia cardíaca, o coma y muerte, tras la insuficiencia respiratoria ocasionada por la depresión del sistema nervioso central.

Los asfixiantes químicos, como los comentados, se diferencian de los simples en que éstos (por ejemplo, metano

o nitrógeno) actúan por mero desplazamiento del oxígeno en el aire inspirado, produciendo la correspondiente hipoxemia. Sin embargo, los asfixiantes químicos (por ejemplo, monóxido de carbono, sulfuro de hidrógeno, cianuro y azida sódica) no reducen la presión parcial arterial del oxígeno, sino que al interferir su transporte y la respiración celular reducen el metabolismo aerobio incrementándose el riesgo de una acidosis láctica, producto del metabolismo anaerobio.

El monóxido de carbono (véase el Recuadro 30-2) es la causa más frecuente de muertes por este tipo de asfixiantes, sobre todo como consecuencia de combustiones incompletas de combustibles en recintos pobemente ventilados (dormitorios, garajes, tiendas de campaña, caravanas) o de ingestión de humos, incluso, al aire libre. La gran toxicidad de este gas inodoro, incoloro e insípido se conoce desde mediados del siglo XIX, cuando Claude Bernard (1813-1878) realizó investigaciones

sobre sus mecanismos de acción y toxicidad.

Las consecuencias más importantes derivadas de la toxicidad del cianuro son la hipotensión persistente y la acidemia, a pesar de que existe oxigenación arterial adecuada. Con el sulfuro de hidrógeno, la situación es parecida.

En todos los casos de envenenamiento por asfixiantes, el primer tratamiento debe ser la oxigenación con oxígeno del 100% de pureza, para combatir la hipoxemia, lo que acelera la eliminación de monóxido de carbono y también, es útil cuando el asfixiante es cianuro o ácido sulfídrico.

En el caso del cianuro, es especialmente útil el tratamiento con una mezcla (que se comercializa) de nitrito sódico y tiosulfato, ya que el nitrito induce la formación de metahemoglobina, que tiene una alta afinidad para unirse con el cianuro, produciendo cianometahemoglobina, actuando el tiosulfato sinergicamente, acelerando la transformación del cianuro hasta tiocianato.

Recuadro 13-4.
**ENFERMEDADES
 MITOCONDRIALES**

El papel esencial de las mitocondrias en el metabolismo energético hace que sus alteraciones funcionales puedan repercutir gravemente en los órganos y tejidos que requieren una mayor energía: cerebro, corazón, musculatura esquelética, riñón y glándulas endocrinas.

Las afecciones mitocondriales son más frecuentes de lo que se creía, afectando a una de cada 4000 personas. Algunas de ellas parecen estar ligadas con otras enfermedades, más o menos comunes, como diabetes, enfermedad isquémica coronaria o muerte súbita infantil, aparte de su relación con el proceso y ciertas enfermedades del envejecimiento, como las de Alzheimer, Parkinson y Huntington.

Muchos trastornos mitocondriales están genéticamente determinados de un modo complejo, ya que las proteínas mitocondriales pueden ser codificadas, en algunos casos, por su propio ADN

mitocondrial (herencia materna), mientras que en otros, lo son por el ADN nuclear (herencia autosómica o ligada al cromosoma X). Concretamente, en los últimos años se han identificado un gran número de mutaciones puntuales del ADN mitocondrial. En el campo de las afecciones mitocondriales, hasta ahora los mayores avances conseguidos lo han sido en la investigación y el diagnóstico de casos, haciéndose necesarios más conocimientos para el adecuado desarrollo de los sistemas de prevención y tratamiento. El primer ejemplo concreto de patología genética mitocondrial fue el de la neuropatía óptica hereditaria de Leber, transmitida por vía materna, que provoca ceguera, frecuentemente en la madurez. Su base molecular consiste en diversas mutaciones que afectan a alguna o algunas de las 7 subunidades mitocondriales que forman parte de la NADH-ubiquinona reductasa. En cualquier caso, es interesante tener presente que la acumulación de mutaciones mitocondriales, a lo largo de la vida, podría explicar la facilidad

de la aparición y el desarrollo de diversas enfermedades degenerativas ligadas al envejecimiento, así como el estímulo de éste.

En cuanto al desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, no siempre se puede considerar un trastorno ya que en los animales recién nacidos, incluso en los humanos, en los animales que hibernan, en los mamíferos adaptados al frío e, incluso, en algunas plantas, es un mecanismo protector en circunstancias específicas. En el tejido adiposo pardo, las membranas internas de sus abundantes mitocondrias poseen una alta concentración de una proteína desacoplante, UCP-1, o termogenina. Más recientemente, se ha encontrado otra UCP-2 en una amplia variedad de tejidos e, incluso, otra UCP-3, localizada en el músculo esquelético y el tejido adiposo pardo. Su posible papel fisiológico se compaginaría con el hecho de que los genes correspondientes se encuentran próximos a otros relacionados con la obesidad. Esto abre nuevas posibilidades futuras para el abordaje farmacológico de la obesidad.

poseer maquinarias mitocondriales para la obtención del correspondiente ATP, más aún si se tiene en cuenta que las necesidades de ATP pueden variar 100 veces en poco tiempo, como sucede si comparamos una situación de descanso, como el sueño, con otra que se caracterice por una intensa actividad física.

13.5 SISTEMAS TRANSPORTADORES EN LA MEMBRANA INTERNA MITOCONDRIAL

La membrana externa mitocondrial posee unas proteínas especiales, las *porinas*, que hacen que no existan problemas especiales de impermeabilidad o transporte. Respecto a la membrana interna, la presencia de distintas permeasas o sistemas transportadores favorece la funcionalidad de las diversas actuaciones mitocondriales. En la Figura 13-8 se resume cómo el flujo protónico, consecuencia de la respiración celular y del funcionamiento del ciclo del citrato, favorece diversos procesos:

1. La entrada mitocondrial del piruvato, mediante el *transportador monocarboxilato*, para su posterior conversión en acetilCoA, que alimenta el ciclo de los ácidos tricarboxílicos.
2. La entrada mitocondrial de fosfato, también mediante un transporte asociado al de un protón.
3. La salida hasta el citoplasma del ATP sintetizado intramitocondriamente, acompañado de un protón, para su reemplazo por el correspondiente ADP, mediante el intercambiador adenílico (*ATP-ADP translocasa*).

13.6 LANZADERAS MITOCONDRIALES

La impermeabilidad de la membrana interna mitocondrial para moléculas o iones como NADH, AcCoA, oxalacetato y potasio, origina ciertos problemas cuya solución depende de la participación de otros sistemas específicos de transporte, como algunos de los recogidos en la Figura 13-8.

Así, la disponibilidad citoplasmática del NADH, en principio, no sería utilizable para la síntesis del ATP, al ser

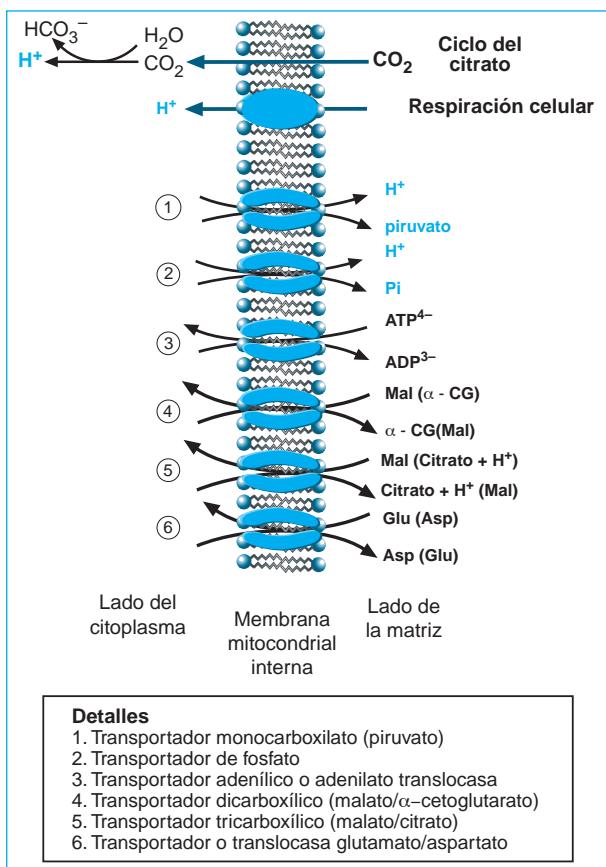


Figura 13-8. Algunos sistemas transportadores en la membrana interna mitocondrial. La respiración celular y el ciclo del citrato incrementan los protones citoplasmáticos y éstos favorecen la entrada de piruvato y fosfato a la matriz mitocondrial y la salida del ATP (intercambiado por ADP desde la matriz mitocondrial).

impermeable para el NADH la membrana interna mitocondrial. La solución radica (Fig. 13-9) en la *lanzadera mitocondrial del malato*, con el concurso, por una parte, de dos enzimas (*malato deshidrogenasa* y *aspartato aminotransferasa*), cada una de ellas con isoenzimas en el citoplasma y en la matriz mitocondrial, y por otra parte, de dos sistemas mitocondriales de transporte (malato/α-cetoglutarato y glutamato/aspartato). De este modo, por cada NADH citoplasmático que se oxida a NAD^+ , un NAD^+ mitocondrial se reduce a NADH, funcionando la lanzadera como si realizase un intercambio neto de NADH citoplasmático por mitocondrial, proporcionando los ATP correspondientes.

Otra alternativa de lanzadera mitocondrial se representa en la Figura 13-10. El NADH cede sus electrones a la mitocondria de un modo indirecto, a través de dos enzimas *glicerol fosfato deshidrogenasa*, una, citoplasmática y la otra, localizada en la membrana interna mitocondrial (asociada a la flavoproteína del complejo II). En este caso, el rendimiento de cada NADH citoplasmático se reduce, puesto que el compuesto intramitocondrial neto originado es FADH_2 , en lugar de NADH.

El entrenamiento físico hace que en las células musculares de los atletas se intensifiquen los sistemas de lanzaderas mitocondriales y, con ello, su rendimiento energético.

13.7 RENDIMIENTOS GLOBALES

Anteriormente, se ha estimado la fuerza protonmotriz o potencial electroquímica producida por la cadena respiratoria en unos 21 kJ/mol H^+ . En condiciones fisiológicas, el valor de

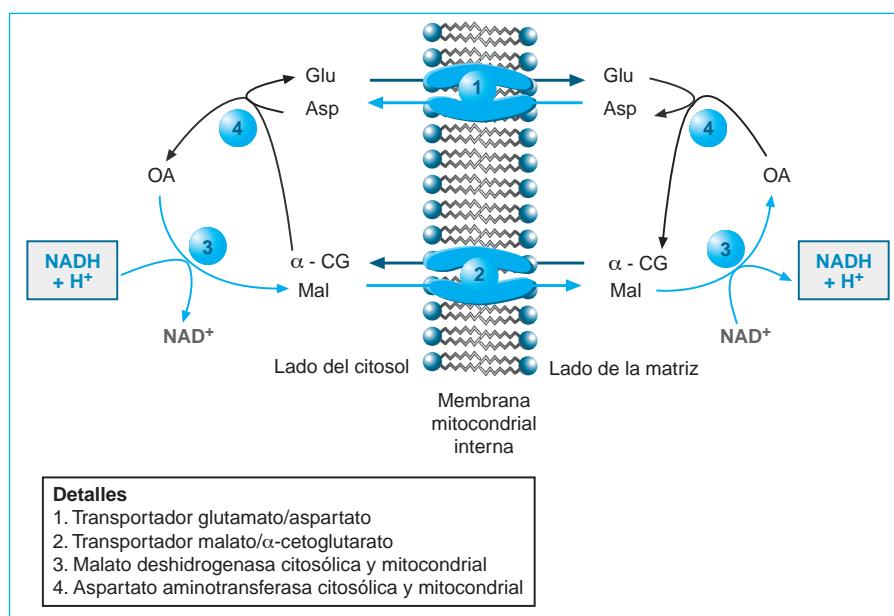


Figura 13-9. Lanzadera mitocondrial del malato. Mediante el funcionamiento cíclico de los procesos integrantes, se consigue que el rendimiento energético de un NADH citoplasmático sea idéntico al de un NADH intramitocondrial.

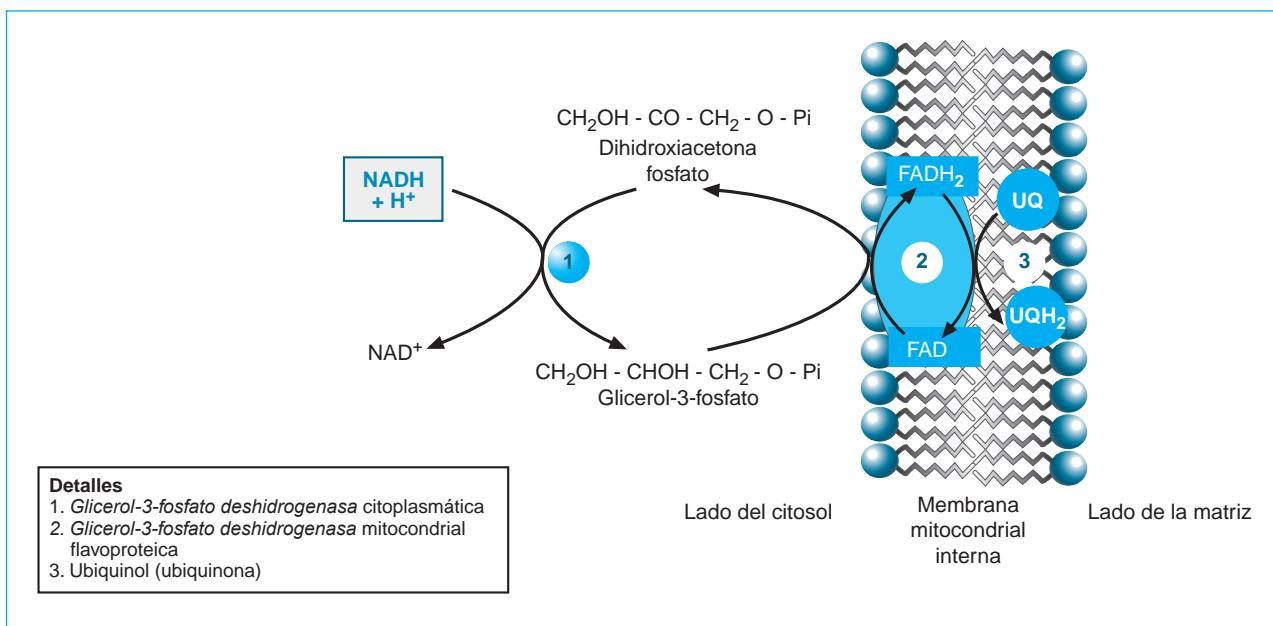


Figura 13-10. Lanzadera mitocondrial del glicerofosfato. Con el uso de esta lanzadera, el rendimiento energético de cada NADH citoplasmático se reduce a 1.5 ATP, en lugar de los 2.5 obtenibles por cada NADH intramitocondrial.

ΔG para la ATP sintasa es de unos +50 kJ/mol, lo que significa que para que se sintetice un ATP se necesita el consumo de unos 2.4 protones. Por otra parte, se gasta un protón para el ingreso mitocondrial del fosfato mediante el correspondiente simporte. En resumen, de acuerdo con lo expuesto, la síntesis de un ATP significa el consumo de unos 4 H⁺.

El rendimiento energético global (ATP por átomo de oxígeno) se puede expresar como *cociente P/O*. Dejando aparte el tema de la participación relativa de las lanzaderas mitocondriales, se ha señalado anteriormente que la oxidación de un NADH por un átomo de oxígeno supone la exportación de 10 H⁺, lo que se traduciría en una producción neta de 2.5 ATP, mientras que la oxidación de una flavina como FADH₂ (translocación de 6 H⁺) tan sólo produciría 1.5 ATP. A partir de ahora, estos valores medios serán los que se consideren para el cálculo de los diferentes rendimientos energéticos en el catabolismo de los hidratos de carbono, lípidos, etcétera. Concretamente, en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos, el consumo de una molécula de acetilCoA significa la obtención de 10 ATP (7.5 ATP de los tres NADH, 1.5 ATP de 1 FADH₂, además de 1 GTP).

En un ser humano en condiciones normales, el consumo diario de oxígeno en la fosforilación oxidativa se traduce en la obtención aproximada de unos 60 kilos de ATP a partir del ADP, que continuamente se vuelve a originar como consecuencia de la hidrólisis del ATP.

13.8 LA CONVERSIÓN DE LOS HIDRATOS DE CARBONO EN ÁCIDOS GRASOS

El exceso de hidratos de carbono en la dieta se almacena como depósitos grados de reserva. Para ello, el catabolismo de estos compuestos produce acetilCoA (véase el Cap. 14), que se convierte anabólicamente en ácidos grasos (véase el Cap. 15). Pero la acetilCoA, producida como consecuencia del catabolismo, se libera en el interior de la mitocondria, mientras que la conversión de acetilCoA en ácidos grasos se efectúa en el citoplasma. Por otra parte, la membrana interna mitocondrial es impermeable a la acetilCoA, lo que supone un problema, cuya respuesta metabólica puede ser variada. En la Figura 13-11 se presenta una solución que hace uso de las enzimas y los sistemas transportadores que ya conocemos. La acetilCoA se transforma en citrato mediante la *citrato sintasa* del ciclo de Krebs. Por las razones expuestas en el apartado del ciclo de los ácidos tricarboxílicos, para la reconversión citoplasmática del citrato en acetilCoA y oxalaceto es necesario acudir a otra reacción y a una enzima diferente, la *citrato liasa*, con el concurso de la energía de hidrólisis del ATP. El resto, igual que acabamos de ver en la lanzadera del malato, consiste en resolver el problema de la impermeabilidad para el oxalaceto, mediante su conversión en malato.

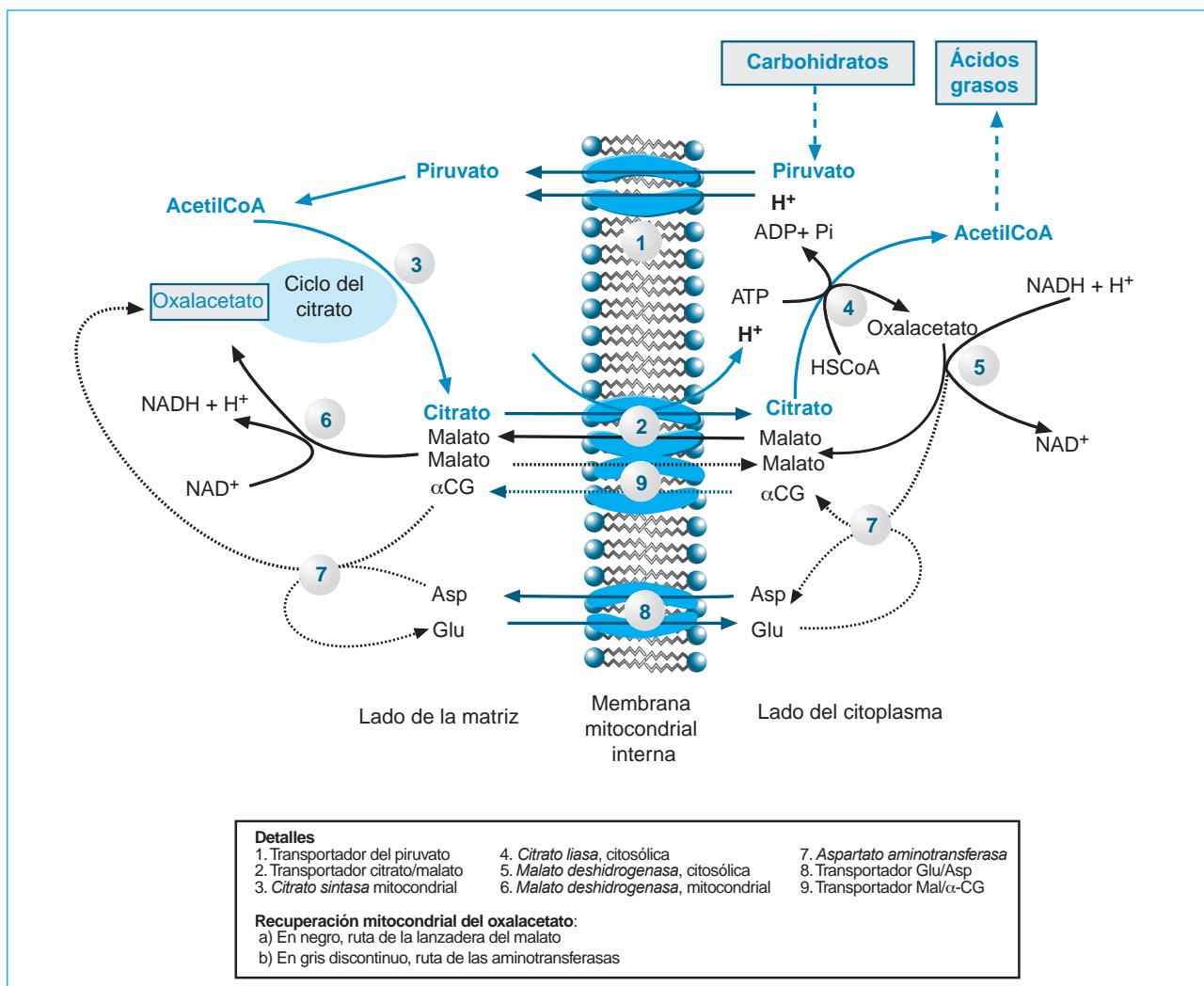


Figura 13-11. Participación mitocondrial en la conversión de los hidratos de carbono en ácidos grasos. Para la salida del acetilCoA intramitocondrial al citoplasma, se recurre a su unión con oxalacetato, para formar citrato. Una vez que el citrato está en el citoplasma, se escinde mediante la citrato liasa. El acetilCoA se utilizará para la biosíntesis de los ácidos grasos. En cuanto al retorno del oxalacetato a la matriz mitocondrial, dependiendo de la situación redox celular, puede realizarse vía malato deshidrogenasa (negro) o vía aminotransferasas y transportador Asp/Glu (en gris discontinuo).

13.9 OXIDACIONES NO LIGADAS A LA CADENA RESPIRATORIA. RADICALES LIBRES

Un cierto porcentaje del consumo de oxígeno de las células eucarióticas aerobias no es sensible al cianuro, es decir, no se consume a través de la cadena respiratoria. Efectivamente, hay una amplia variedad de transformaciones metabólicas que utilizan oxígeno molecular (Fig. 13-12), existiendo orgánulos especializados, como los peroxisomas, en los que el metabolismo oxidativo es particularmente intenso.

Ello, junto al importante metabolismo oxidativo mitocondrial, en el que existen intermedios como las semiquinonas, hace que continuamente se produzcan especies oxigenadas reactivas (ROS), como los radicales libres oxigenados que, fisiológicamente, participan en las reacciones de defensa celular protagonizadas por los macrófagos, para destruir las partículas o células extrañas al organismo.

Por otra parte, la producción y acumulación de especies tan agresivas provoca problemas por su reactividad y toxicidad, que se han relacionado con alteraciones cardiovasculares, diabetes, procesos destructivos de membranas,

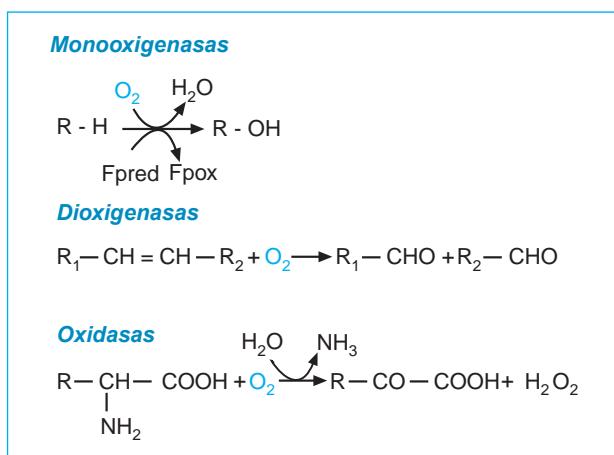


Figura 13-12. Algunos sistemas enzimáticos en los que participa el oxígeno. Las monooxigenasas, usualmente microsómicas, son flavoproteínas (*Fp*) que actúan sobre una amplia variedad de sustratos, entre ellos, muchos xenobióticos, incorporándose sólo un átomo de oxígeno. Pueden acoplarse con otras enzimas dependientes de NADPH. Las dioxigenasas, de diversos tipos, incorporan los dos oxígenos a los productos de la reacción. En las oxidadas, el oxígeno actúa como aceptor y se origina peróxido de hidrógeno.

envejecimiento celular, malignización, muerte celular, entre otros, más aún si se tiene en cuenta la posible existencia de interacciones entre tales especies que dan lugar a otras más reactivas, como ocurre en la reacción de Fenton (Fig. 13-13), especies que pueden modificar las moléculas de los hidratos de carbono, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos.

La actuación de la enzima *superóxido dismutasa*, que transforma el anión superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno (sustrato de peroxidases o catalasas), es uno de los mecanismos biológicos de defensa ante los radicales libres oxigenados. Se ha propuesto que los efectos saludables, antimalignizantes, antivejez, etcétera, de las dietas ricas en antioxidantes (vitamina C, vitamina E, carotenos, flavonoides, etc.) se deben a su capacidad específica de reducir los niveles de radicales libres oxigenados.

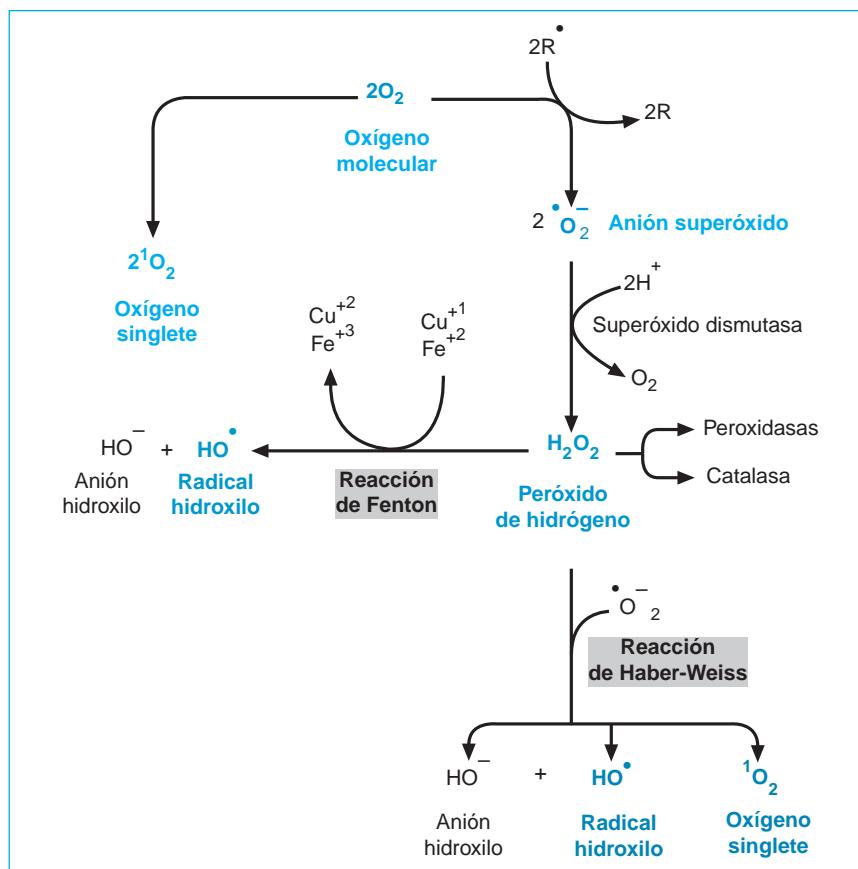


Figura 13-13. Interrelaciones entre especies oxigenadas y radicales libres oxigenados.

RESUMEN

- Las mitocondrias son los orgánulos encargados de culminar el catabolismo de los seres aerobios. Los aminoácidos, hidratos de carbono y ácidos grasos pueden degradarse hasta el metabolito común acetilCoA y éste, en las mitocondrias, es catabolizado hasta dióxido de carbono.
- Los aminoácidos, hidratos de carbono y ácidos grasos son interconvertibles entre sí, salvo algunas excepciones, en los organismos superiores, como el ser humano. Entre las excepciones se encuentran: aminoácidos y ácidos grasos esenciales, así como la transformación de fracciones bicarbonadas en otras superiores, lo que significa la de ácidos grasos en hidratos de carbono. En las plantas y los microorganismos ello se obvia con el ciclo del glioxilato.
- Las enzimas del ciclo del citrato se presentan solubles en la matriz mitocondrial, excepto la succinato deshidrogenasa, situada en la membrana interna. Cada vuelta completa al ciclo supone la oxidación de un acetilCoA, con la obtención de dos dióxidos de carbono, tres NADH, una FADH₂ y un GTP.
- Las enzimas del ciclo del citrato poseen un papel anfóblico, pudiendo participar en procesos anabólicos concretos.
- Los componentes de la cadena respiratoria, agrupados funcionalmente en forma de complejos, se sitúan en la membrana interna mitocondrial. El flujo electrónico procedente de la oxidación de NADH o FADH₂ se va transmitiendo a lo largo de los componentes redox hasta alcanzar al acceptor, el oxígeno, que se reduce y con los correspondientes protones da lugar a moléculas de agua.
- De acuerdo con la teoría quimiosmótica, el flujo electrónico de la cadena respiratoria provoca un gradiente de protones que son bombeados desde la matriz mitocondrial al espacio intermembranal es decir, al citoplasma.
- Ese gradiente de protones da lugar a un potencial electroquímico que es suficiente para que energéticamente la ATP sintasa, situada en la membrana interna mitocondrial pueda sintetizar ATP, mediante la fosforilación de ADP. Globalmente, cada acetilCoA que es catabolizado aerobiamente con el concurso del citrato, la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa, supone la obtención de 10 ATP.
- Los impedimentos metabólicos que se derivan de la impermeabilidad de la membrana interna mitocondrial se resuelven satisfactoriamente por la existencia de sistemas específicos de transporte.
- Las afecciones mitocondriales son muy variadas y pueden afectar a las enzimas del ciclo del citrato, la cadena respiratoria (como sucede con los asfixiantes), el acoplamiento con la fosforilación oxidativa, o a los diferentes mecanismos de regulación y control.
- La gran intensidad del metabolismo aerobio favorece la aparición de especies oxigenadas reactivas, entre ellas, los radicales libres oxigenados, cuya participación se ha ligado a innumerables patologías y procesos degradativos como el envejecimiento.
- Los cloroplastos presentan muchas similitudes estructurales y funcionales con las mitocondrias, lo que se pone de manifiesto en las características de las fases luminosas de la fotosíntesis, con cadenas redox en membranas, gradientes de protones que actúan sobre *ATPsintasa*, etcétera.

EVALUACIÓN

1. (B). En relación con el ciclo del citrato:
 1. Todas sus etapas enzimáticas son muy reversibles.
 2. El sustrato para el complejo α -cetoglutarato deshidrogenasa responde a la fórmula $C_4H_8O_4$.
 3. En la reacción catalizada por la *citrato sintasa* se consume una molécula de ATP.
 4. Por cada vuelta del ciclo se obtienen 4 NADH + 4 H⁺.

a	b	c	d	e
---	---	---	---	---
2. (C). Las enzimas del ciclo de los ácidos tricarboxílicos se pueden utilizar para colaborar parcialmente, bien en las vías anabólicas, o bien, en las catabólicas PORQUE tales enzimas actúan, tanto extra, como intramitocondrialmente.

a	b	c	d	e
---	---	---	---	---
3. (A). Al convertirse α -cetoglutarato en succinilCoA deben participar las siguientes coenzimas, grupos prostéticos o efectores:
 - a. AMP + pirofosfato de tiamina + HSCoA.
 - b. Pirofosfato de tiamina + ácido lipoico + HSCoA.
 - c. Fosfato de piridoxal + ácido lipoico + HSCoA.
 - d. AMP + fosfato de piridoxal + HSCoA.
 - e. Pirofosfato de tiamina + vitamina B₁₂ + HSCoA.
4. (A). No es una enzima o componente de la cadena transportadora de electrones:
 - a. *Citocromo oxidasa*.
 - b. *NADH - ubiquinona oxidoreductasa*.
 - c. Citocromo c.
 - d. *Succinato deshidrogenasa*.
 - e. *ATPasa*.
5. (B). El efecto tóxico del cianuro sobre los seres vivos se debe a la formación de:
 1. Cianohemoglobina.
 2. Cianooxihemoglobina.
 3. Cianocarboxihemoglobina.
 4. Cianometahemoglobina.

a	b	c	d	e
---	---	---	---	---
6. (A). Fosforilación oxidativa:
 - a. La diferencia de potencial entre los complejos I y II no permite una fosforilación oxidativa acoplada, pero sí una fosforilación a nivel de sustrato.
 - b. Desde el NADH, por cada átomo de oxígeno consumido se producen 2.5 ATP.
 - c. Para cualquier sustrato dador de hidrógeno, el cociente P/O vale 3.
 - d. Para el FADH₂ el cociente P/O vale 4.
 - e. El ATP producido intramitocondriamente pasa al citoplasma y desde allí a la circulación sanguínea, desde donde se distribuye por todo el organismo.
7. (B). Desacopladores de la fosforilación oxidativa:
 1. Lo son la tiroxina y el 2,4-dinitrofenol.
 2. Actúan fisiológicamente en el tejido pardo.
 3. Sus consecuencias son que la membrana interna mitocondrial parece ser menos impermeable a los protones.
 4. El monóxido de carbono actúa como tal.

a	b	c	d	e
---	---	---	---	---
8. (C). La ATPasa o ATP sintasa mitocondrial está situada en la membrana interna mitocondrial, totalmente embebida en su interior, PORQUE en caso de que alguna porción sobresaliese de la misma, ello interrumpiría el flujo electrónico de la cadena respiratoria.

a	b	c	d	e
---	---	---	---	---
9. (A). Lanzadera mitocondrial del malato:
 - a. Consigue que cada NADH citoplasmático equivalga energéticamente a 2 ATP.
 - b. Exige la existencia de una *malato deshidrogenasa* muy activa ubicada en la membrana interna.
 - c. Participa en un sistema antiporte malato/ α -cetoglutarato.
 - d. Consigue que el oxalacetato, como tal, atraviese las membranas internas.
 - e. Exige la participación de *glutamato/piruvato amino-transferasa*.
10. (B). Lanzadera mitocondrial del glicerol fosfato:
 1. Con ella cada NADH citoplasmático equivale energéticamente a 1.5 ATP.
 2. Participa una *glicerolfosfato deshidrogenasa* citoplasmática flavoproteica, dependiente de FAD.
 3. En el proceso, los electrones procedentes del NADH llegan hasta el FAD en la membrana interna, que los transfiere hasta la ubiquinona de la cadena respiratoria.
 4. Al operar, se va acumulando dihidroxiacetona fosfato en el citoplasma.

a	b	c	d	e
---	---	---	---	---
11. (C). La conversión de los hidratos de carbono a ácidos grasos implica que el acetilCoA intramitocondrial esté disponible en el citoplasma, lo que es resoluble metabólicamente PORQUE existe un sistema simporte citrato/malato en la membrana interna mitocondrial.

a	b	c	d	e
---	---	---	---	---
12. (B). Radicales libres:
 1. Se sintetizan mediante la *superóxido dismutasa*.
 2. El anión superóxido es un inhibidor de la superóxido dismutasa.
 3. El peróxido de hidrógeno disminuye la toxicidad de los radicales libres, ya que convierte al anión superóxido en especies inactivas.
 4. Los macrófagos que participan en el proceso inmunitario destruyen eficazmente todos los radicales libres.

a	b	c	d	e
---	---	---	---	---

BIBLIOGRAFÍA

- Bazzad FA, Fajel ED: La vida de las plantas en un mundo enriquecido con CO₂. *Inv y C* 1992; marzo: 6-13.
- Coleman G, William J: Cómo producen oxígeno las plantas. *Inv y C* 1990; abril: 50-57.
- García-Vallve S: Contribution of Each Complex of the Mitochondrial Respiratory Chain in the Generation of the Proton-motive Force. *Biochem Mol Biol Educ* 2004; 32: 17-19.
- Guerra G, Martínez F, Pardo JP: On the H+/2e- Stoichiometry of the Respiratory Chain. *Biochem Mol Biol Educ* 2002; 30: 363-367.
- Junge W, Lill H, Engelbretch: ATP synthase: An electrochemical transducer with rotatory mechanics. *TiBS* 1997; 22: 420-423.
- Krebs HA: The history of the tricarboxilic acid cycle. *Perspect Biol Med* 1970; 14: 154-170.
- Nitscheke W, Rutherford AM: Photosynthetic reaction centres: variations on a common structural theme? *TiBS* 1991; 16: 241-245.
- Nugent JH, Rich AM, Evans MC: Photosynthetic water oxidation: towards a mechanism. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1503: 138-146.
- Prebble J: Peter Mitchell and the ox phos wars. *TiBS* 2002; 27: 209-212.
- Saraste M: Oxidative phosphorylation at the fin de siecle. *Science* 1999; 283: 1488-1490.
- Weitzman PDY: Chemical rationale for the citric cycle acid. *Biochem Mol Biol Educ* 1992; 20: 21-22.
- Zer H, Ohad I: Light, redox state, thylakoid-protein phosphorylation and signaling gene expression. *TiBS* 2003; 28: 467-470.

METABOLISMO DE LOS HIDRATOS DE CARBONO

14

14.1 INTRODUCCIÓN

Los hidratos de carbono, o glúcidos, constituyen la principal fuente de energía para el ser humano. En el Capítulo 5 se exponen sus datos estructurales y funcionales más relevantes, mientras que sus características nutricionales se resumen en el Capítulo 11. Los monosacáridos son sus productos digestivos finales y llegan al hígado por la circulación portal para ser metabolizados allí en su mayor parte (un 60%). Aunque en todas las células se dan algunas de las transformaciones metabólicas de los glúcidos que se citan a continuación, es en el hígado, donde ocurren todas y que controla de forma principal la homeostasis de la glucosa:

1. *Glicólisis anaerobia.* Partiendo de la glucosa o de otros monosacáridos, una serie de enzimas glicolíticas citoplasmáticas, mediante intermedios fosforilados y en condiciones anaerobias, producen piruvato o lactato, además de una cantidad limitada de ATP, a partir de ADP y fosfato. Este proceso, evolutivamente de los más antiguos, aún se conserva, prácticamente en todas las células vivas.
2. *Glicólisis aerobia.* En las células eucarióticas, el piruvato producido en condiciones anaerobias se introduce en las mitocondrias y, tras su conversión hasta acetilCoA, alimenta el ciclo del citrato. El oxígeno, indirectamente, facilita su oxidación hasta dióxido de carbono y tiene lugar una importante producción de ATP por medio de la *fosforilación oxidativa*. En células con pocas o ninguna mitocondria, esta vía metabólica es poco o nada relevante. En el hígado, la acetilCoA también puede convertirse en lípidos transportables al tejido adiposo (véase el Cap. 15).
3. La *ruta de las pentosas fosforiladas* es otra vía catabólica alternativa, anaerobia y citoplasmática, que produce el NADPH necesario para la biosíntesis de los ácidos grasos y esteroides. Por esta razón, es especialmente activa en los órganos y tejidos en que tal síntesis tiene lugar. Además, esta vía permite la conversión entre hexosas y pentosas, entre ellas la D-ribofa, imprescindible para la biosíntesis de los nucleótidos y ácidos nucleicos (véanse los Caps. 16 y 19).

4. La *vía del ácido D-glucurónico* comienza con la glucosa-1-fosfato y cuando se combina con la ruta de las pentosas fosforiladas, puede constituir otro camino catabólico citoplasmático productor de equivalentes de reducción, aunque su papel principal radica en que proporciona intermedios para la síntesis de metabolitos importantes, como el ácido ascórbico (no en seres humanos), las hexosaminas (precursores de proteoglicanos y glicoproteínas) o el ácido glucurónico, que desempeña un papel esencial en los procesos de detoxificación de muchas moléculas, entre ellas la bilirrubina, producto catabólico de la hemoglobina (véase el Cap. 30).

5. *Gluconeogénesis.* Tiene lugar fundamentalmente en los hepatocitos. La ruta consiste en la obtención de glucosa a partir de otros metabolitos precursores, y es esencial para regular la glucemia. El proceso, globalmente opuesto al de la glicólisis, necesita enzimas específicas mitocondriales y citoplasmáticas, así como el adecuado suministro energético en forma de ATP y GTP.
6. *Glucogenosíntesis y glucogenólisis.* Ambos procesos citoplasmáticos, importantes en las células hepáticas y musculares, son contrapuestos entre sí, pero utilizan rutas enzimáticas diferentes.

Existen alteraciones del metabolismo de los glúcidos que se asocian a diversos trastornos, como glucogenosis, galactosemia, intolerancia a la fructosa, diabetes u obesidad. Estas dos últimas, a su vez, son factores determinantes de enfermedades como la aterosclerosis o la hipertensión y de problemas renales, entre otros.

14.2 LA GLICÓLISIS ANAEROBIA

La palabra glicólisis deriva de términos griegos que significaban disolución dulce. La *glicólisis anaerobia* o vía de Embden-Meyerhof-Harden, en reconocimiento parcial a la historia de su descubrimiento, opera en todas las células, constituyendo un recuerdo metabólico de la época evolutiva en la que los organismos vivían en una atmósfera sin oxígeno.

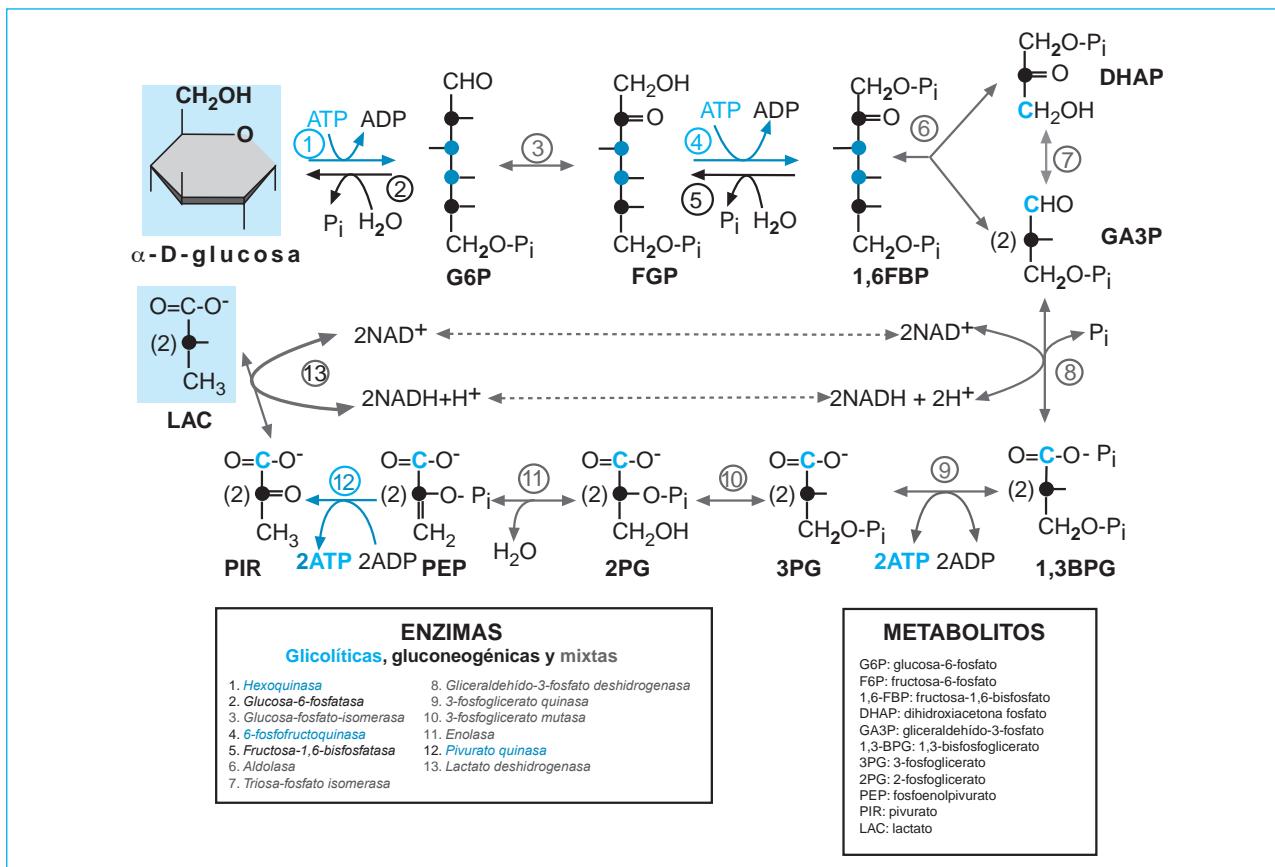


Figura 14-1. Esquema general de la glicólisis anaerobia con las enzimas y metabolitos participantes. En azul, las etapas típicamente glicolíticas; en negro, las gluconeogénicas; en gris, las mixtas. Obsérvese cómo los carbonos 3 y 4 de la glucosa inicial se convierten en el C1 del piruvato o lactato. Asimismo, que la actividad lactato deshidrogenasa es esencial para que no se altere la proporción NADH/NAD⁺ (situación redox) del citoplasma.

Durante el parto, cuando la circulación sanguínea y el acceso al oxígeno son escasos, es muy importante la glicólisis anaerobia para el neonato. En los adultos, esta ruta es especialmente activa en las células con pocas mitocondrias, como las del músculo blanco, los testículos, la médula renal, la córnea, el cristalino (las mitocondrias absorberían y difrarían la luz) o los eritrocitos (que carecen de mitocondrias).

En la Figura 14-1 se indican los pasos enzimáticos de la glicólisis anaerobia que conducen desde la glucosa hasta el pivirato, con la posibilidad de que éste se convierta en lactato. Aun cuando, tanto la glucosa, como la glucosa-6-fosfato y la fructosa-6-fosfato se presenten de forma natural en sus formas cíclicas (véase el Cap. 5), utilizaremos las fórmulas abiertas de Fischer para facilitar el seguimiento de las transformaciones.

Tras el transporte de la glucosa al interior de las células, comienza una fase de preparación de la glicólisis (pasos 1, 3 y 4), hasta llegar a la fructosa-1,6-bisfosfato, con lo que se

consigue fosforilar a los monosacáridos, encerrándolos en la célula, dada la impermeabilidad de la membrana plasmática para los compuestos polares fosforilados. En esta fase de preparación no se obtiene energía, sino que por cada glucosa transformada en fructosa-1,6-bisfosfato se necesita la hidrólisis de dos ATP. La fase siguiente es la de *ruptura* o lisis (pasos 6 y 7): la fructosa-1,6-bisfosfato se fracciona en dos porciones moleculares de tres átomos de carbono cada una, aldotoriosa-fosfato (gliceralehído-3-fosfato) y cetotriosa-fosfato (dihidroxiacetona fosfato), sin consumo ni producción de ATP. En los últimos pasos (8 al 13) es donde tiene lugar la fase *oxidativa* (paso 8, catalizado por una *triosafosfato deshidrogenasa*) y la de *obtención de energía* (pasos 9 y 12), mediante *fosforilaciones a nivel de sustrato*, semejantes a la existente en el ciclo del ácido cítrico cuando la succinilCoA se convierte en succinato (véase el Cap. 13).

Por cada molécula de glucosa se consume, por tanto, un ATP en la reacción catalizada por la hexoquinasa o gluco-

quinasa (paso 1), otro ATP en la catalizada por la *6-fosfofructoquinasa* (el 4), mientras que se obtienen dos ATP en el paso 9, catalizado por la *3-fosfoglicerato quinasa*, y otros dos ATP en el paso 12, catalizado por la *piruvato quinasa*. Por ello, globalmente, podemos resumir la glicólisis anaerobia en la forma expresada en la Figura 14-2, según sea piruvato o lactato el producto final de la misma.

En caso de considerar el lactato como producto final de la glicólisis anaerobia, su única posibilidad metabólica posterior es reconvertirse en piruvato, mediante la *lactato deshidrogenasa*, por lo que podemos simplificar el rendimiento energético de la glicólisis anaerobia desde un mol de glucosa a dos de piruvato en forma de dos moles de ATP y dos de NADH. Dependiendo de la lanzadera mitocondrial que opere para el NADH citoplasmático (véase el Cap. 13), ello supondría un total de cinco o siete ATP, respectivamente.

Podemos repasar, de forma breve, la enzimología y la bioenergética de la ruta, reservando su regulación a un apartado posterior, donde se examinarán conjuntamente glicólisis y la gluconeogénesis:

- La reacción glucosa + ATP → glucosa-6-fosfato + ADP, catalizada por la *hexoquinasa*, posee un $\Delta G_0'$ de -17 kJ/mol, es decir, se trata de un proceso muy exergónico, poco reversible. Por ello, cuando en la gluconeogénesis es necesario convertir glucosa-6-fosfato en glucosa se ha de utilizar una reacción diferente, catalizada por la enzima *glucosa-6-fosfatasa* (paso 2 de la Fig. 14-1), en la que la hidrólisis del fosfato hace que sea también exergónica.

La enzima *hexoquinasa* está repartida universalmente, con varias isoenzimas poco específicas, logrando la fosforilación, no sólo de la D-glucosa, sino también, menos eficazmente, de otras hexosas como D-fructosa o D-manosa. En el hígado de los mamíferos existe otra isoenzima particular, la *glucoquinasa* o *hexoquinasa IV*, muy específica para la D-glucosa,

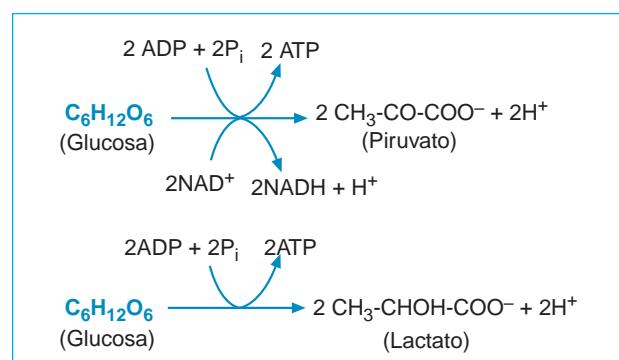


Figura 14-2. Resumen global de la glicólisis anaerobia desde glucosa a piruvato o lactato.

capaz de catalizar la misma reacción, con una K_m hacia glucosa 1000 veces mayor que la de la *hexoquinasa*.

- El paso 4 está catalizado por la principal enzima reguladora de la glicólisis anaerobia, la *6-fosfofructoquinasa*: fructosa-6-fosfato + ATP → fructosa-1,6-bisfosfato + ADP. La situación bioenergética es semejante a la del paso 1, bastante irreversible, por lo que la transformación gluconeogénica desde fructosa-1,6-bisfosfato a fructosa-6-fosfato se cataliza también mediante otra fosfatasa hidrolítica, la *fructosa-1,6-bisfosfatasa* (paso 5 en la Fig. 14-1).
- La *piruvato quinasa* es la enzima, también de gran interés regulador, que cataliza la reacción: fosfoenolpiruvato + ADP → piruvato + ATP (paso 12). Aunque parte de la gran energía de hidrólisis del fosfoenolpiruvato se utiliza para conseguir una fosforilación a nivel de sustrato, la transformación sigue siendo muy exergónica, lo que provoca la práctica irreversibilidad del proceso. Para que el piruvato pueda ser un sustrato gluconeogénico, convertible en fosfoenolpiruvato, no se puede, pues, utilizar esta enzima *piruvato quinasa*, sino que, como se verá en el apartado de la gluconeogénesis, han de colaborar dos nuevas enzimas cuya actuación secuencial resuelve la situación.
- Las características termodinámicas del resto de las etapas enzimáticas facilitan la reversibilidad de las mismas: la *glucosa-6-fosfato isomerasa* (paso 3) es específica para la glucosa-6-fosfato y convierte la forma aldosa en cetosa (fructosa-6-fosfato). La enzima *aldolasa* (paso 6) hace lo contrario de lo que químicamente se define como una *condensación aldólica*, rompiendo un enlace carbono-carbono, con la producción de dihidroxiacetona fosfato y gliceraldehído-3-fosfato. Una *triosia-fosfato isomerasa* puede interconvertir ambas triosas.

Hay que destacar que en el hígado existe una isoenzima de aldolasa, la *aldolasa 2*, capaz de romper la fructosa-1-fosfato, produciendo dihidroxiacetona fosfato y gliceraldehído. Este último, mediante una quinasa, daría el gliceraldehído-3-fosfato, necesario para continuar la glicólisis.

- La *fase final de la glicólisis* comienza en el paso 8, con la *triosia-fosfato deshidrogenasa*, cuyo sustrato es el gliceraldehído-3-fosfato. La deshidrogenación de la aldosa hasta su forma ácida es suficientemente exergónica como para poderse lograr una nueva fosforilación de la molécula, hasta el 1,3-bisfosfoglicerato. El arsenato, por su similitud con el fosfato, puede interferir con esta enzima y ser un obstáculo para la glicólisis.

El 1,3-bisfosfoglicerato, en una reacción catalizada por la *3-fosfoglicerato quinasa*, se convierte en

3-fosfoglicerato, junto con la fosforilación de sustrato antes comentada. El 1,3-bisfosfoglicerato puede transformarse también en su isómero 2,3-bisfosfoglicerato, un factor alostérico de gran importancia en la unión del oxígeno a la hemoglobina (véase el Cap. 30).

Continuando la glicólisis, tras la actuación de la *3-fosfoglicerato mutasa* (paso 10), la *enolasa* deshidrata las moléculas de 2-fosfoglicerato y las convierte en fosfoenolpiruvato. La enzima *enolasa* es muy sensible al ion fluoruro, por lo que una de las razones del uso del fluoruro para el control de la caries es que en concentraciones bajas consigue inhibir la glicólisis anaerobia de los microorganismos orales cariógenos (véase el Cap. 36).

Por último, respecto a la enzima *lactato deshidrogenasa* (paso 13), hay que destacar que su concurso sirve para que en las células con metabolismo esencialmente anaerobio, no se acumule rápidamente el NADH y se consuma totalmente el NAD⁺, momento en el que quedaría interrumpida la vía glicolítica. La conversión de piruvato en lactato recupera los niveles iniciales de la coenzima oxidada y permite que la reacción global, glucosa → 2 lactatos + 2 H⁺, se realice con gran rapidez, compensando el aparente poco rendimiento que supone la obtención de 2 ATP por unidad de glucosa catabolizada. Así, en condiciones que limiten la disponibilidad de oxígeno, como es el caso de esfuerzos musculares intensos de corta duración, se puede conseguir que las necesidades energéticas se cubran rápidamente, mientras haya glucosa libre o procedente del glucógeno almacenado.

14.2.1 La glicólisis de otros monosacáridos

Los monosacáridos diferentes de la glucosa pueden suponer un 30-60% de los hidratos de carbono de la dieta y se metabolizan principalmente en el hígado, la corteza renal y el intestino delgado. En concreto, la fructosa es un componente importante de la dieta (véase el Cap. 11), suponiendo alrededor del 25% de nuestra ingestión de hidratos de carbono.

El metabolismo de la fructosa es esencialmente hepático. Se inicia con una *fructoquinasa* específica (nombre recomendado oficialmente: *cetohexoquinasa*) (Fig. 14-3) que la convierte en fructosa-1-fosfato, en lugar de fructosa-6-fosfato. La F1P no es sustrato de la *fosfofructoquinasa* glicolítica, pero sí lo es de la *aldolasa 2* hepática, que escinde la molécula en dihidroxiacetona fosfato (ya intermedio glicolítico) y gliceraldehído, que mediante su quinasa específica se convierte en gliceraldehído-3-fosfato (también intermedio glicolítico). Estos productos metabólicos de la fructosa pueden proseguir el camino catabólico glicolítico u otras vías alternativas, como la glu-

coneogénica, según cuáles sean los condicionamientos metabólicos. El fallo o déficit, normalmente hereditario, de la *fructoquinasa* específica conduce a la situación patológica conocida como *fructosuria esencial* y el de la *aldolasa 2* hepática, a la más grave condición de *intolerancia hereditaria a la fructosa*, que conlleva la acumulación intracelular de fructosa-1-fosfato, provocando diversas alteraciones en el metabolismo glucídico.

En cuanto a la galactosa, procedente de la lactosa, no es sustrato de la *hexoquinasa*, por lo que se transforma, en el hepatocito, en galactosa-1-fosfato, mediante una *galactoquinasa* específica (Fig. 14-3). Este derivado fosforilado, con el concurso de la UDP-glucosa (uridina difosfato-glucosa) y de la enzima *galactosa-1-fosfato uridiltransferasa*, da lugar a UDP-galactosa y glucosa-1-fosfato, ésta última integrable en la glicólisis tras su isomerización a glucosa-6-fosfato, mediante la enzima *fosfoglucomutasa*. En cuanto a la UDP-galactosa, una isomerasa (nombre oficial recomendado: *UDP-glucosa 4-epimerasa*) la transforma en UDP-glucosa. Entre los procesos patológicos relacionados con la galactosa, el más grave es la *galactosemia congénita*, por deficiencia homocigótica de la enzima *galactosa-1-fosfato uridiltransferasa*. El sistema nervioso del neonato se degenera si el diagnóstico no es suficientemente rápido. El tratamiento básico es dietético, eliminando de la alimentación la lactosa.

La observación de los procesos resumidos en la Figura 14-3 muestra que la glicólisis anaerobia hasta piruvato de un mol de monosacárido fructosa o galactosa, al igual que de la glucosa, supone la obtención de siete moles de ATP.

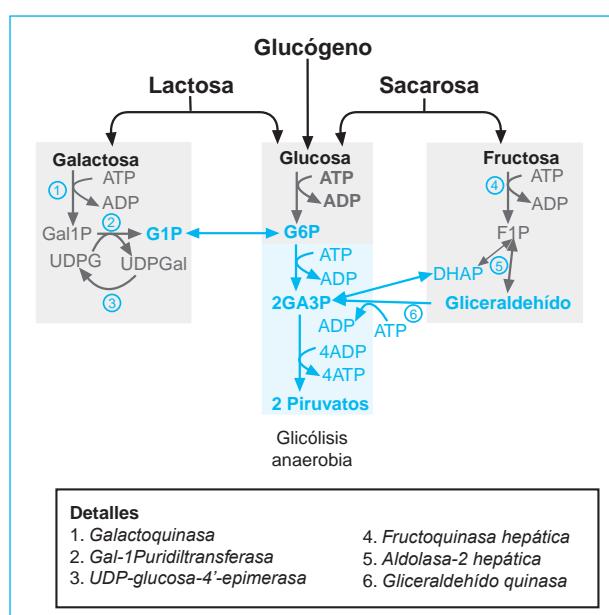


Figura 14-3. Entrada glicolítica de la fructosa y la galactosa. En gris, las etapas y enzimas que las catalizan, que permiten la integración en la vía glicolítica.

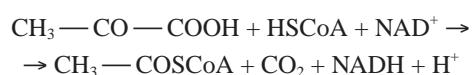
Tabla 14-1. Características del complejo piruvato deshidrogenasa

Enzima	Número de cadenas	Estructura	Coenzima/vitamina
Piruvato deshidrogenasa (lipoamida) (o piruvato descarboxilasa)	30	Heterotetramérica $\alpha_2 \beta_2$ Dos subunidades	Tiamina (B ₁)
Dihidrolipoamida acetiltransferasa	60	Monomérica	Ácido lipoico Coenzima A (ác. pantoténico)
Dihidrolipoamida deshidrogenasa	6	Homodimérica	Riboflavina (B ₂) Nicotinamida

14.2.2 La glicólisis aerobia

Cuando existen mitocondrias y acceso al oxígeno, en las mismas células donde ha tenido lugar la glicólisis anaerobia citoplasmática el proceso de degradación puede continuar desde el piruvato hasta su catabolismo total, de dióxido de carbono y agua. Si ello no es así, el piruvato y, sobre todo, el lactato producido pasan a la circulación sanguínea y son captados por células, como las hepáticas, donde puede efectuarse esa fase del catabolismo aerobio. En todo caso, el piruvato, procedente o no del lactato, penetra en el interior de las mitocondrias, y se convierte allí en acetilCoA y, posteriormente, en CO₂ y agua, a través del ciclo del citrato (véase el Cap. 13).

Para facilitar esta transformación, en los mamíferos existe, ligado a la membrana interna mitocondrial, un complejo enzimático, el *complejo piruvato deshidrogenasa*, que cataliza la descarboxilación oxidativa del piruvato intramitocondrial:



Las características principales de los componentes de este complejo en los tejidos de los mamíferos se resumen en la Tabla 14-1, en la que se puede apreciar que participan tres enzimas y varias formas activas de vitaminas: vitamina B₁, en forma de pirofosfato de tiamina; riboflavina, o vitamina B₂, como FAD; nicotinamida, vitamina PP o B₃, en la molécula de NADH; y ácido pantoténico, o vitamina B₅, en la coenzima A.

El *complejo piruvato deshidrogenasa* forma agregados moleculares de varias decenas de subunidades que, en los mamíferos, poseen pesos moleculares altos, entre 7 y $8.5 \cdot 10^6$ Da. Tal como se observa en el esquema de la Figura 14-4, los intermediarios de las diversas transformaciones permanecen unidos de forma covalente a cada una de las tres enzimas que componen el complejo, que actúan secuencial-

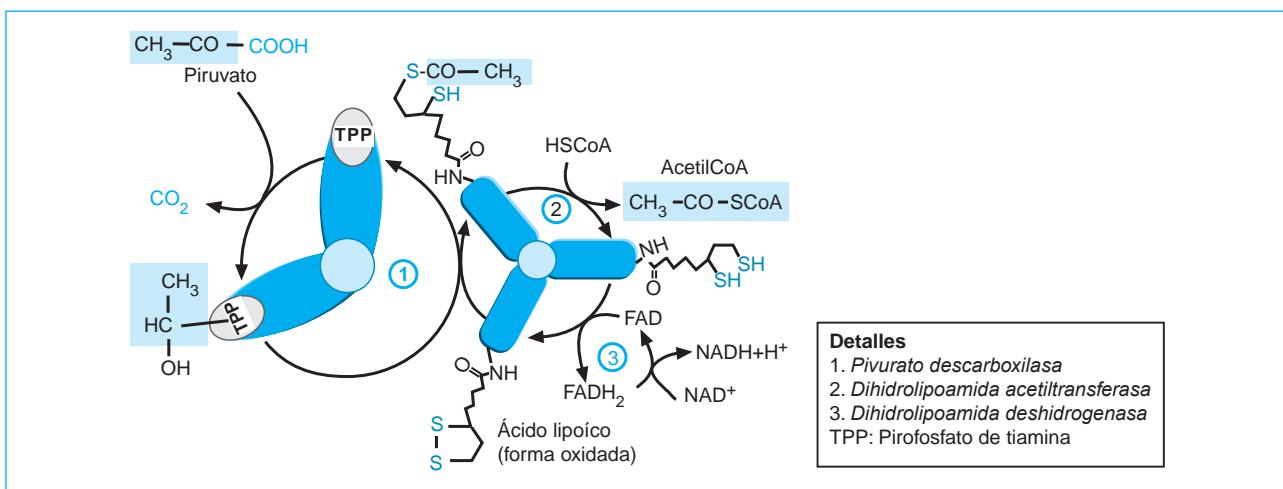


Figura 14-4. El complejo piruvato deshidrogenasa. Las tres enzimas actúan secuencialmente, siendo sustrato de la segunda (tercera) enzima el producto de la primera (segunda), sin que cada intermedio deje de estar unido covalentemente al complejo, por lo que no se libera al medio hasta el final del proceso, en forma de acetilCoA.

mente. Este modelo también es válido para otras α -cetoácido deshidrogenasas, como la α -cetoglutarato deshidrogenasa, de tan importante función en el ciclo del ácido cítrico, u otras parecidas que operan, por ejemplo, en el catabolismo de los L- α -aminoácidos, tras la transformación de éstos en sus correspondientes α -cetoácidos mediante las respectivas transaminaciones (véase el Cap. 16).

El proceso global es muy exergónico, por lo que la conversión del piruvato en acetilCoA podemos considerarla prácticamente irreversible. Como los mamíferos no poseen las enzimas que, en otros organismos, hacen posible pasar de acetilCoA a piruvato, ello significa que los ácidos grasos naturales, de número par de átomos de carbono, escindibles hasta acetilCoA, no pueden originar piruvato, que por gluconeogénesis proporcionaría glucosa. Por tanto, en los mamíferos, no existe reversibilidad metabólica entre hidratos de carbono y ácidos grasos, y el exceso de ácidos grasos no transformados en otros productos se almacena en forma de depósito lipídico.

El complejo *piruvato deshidrogenasa* produce un NADH mitocondrial, lo que equivale a cinco ATP por cada glucosa (dos piruvatos). Por tanto, recordando que cada acetilCoA suponía 10 ATP, y que en la glicólisis anaerobia se obtenían dos ATP y dos NADH, ello significaría un rendimiento global desde la glucosa de 30 ó 32 ATP (dependiendo de la lanzadera mitocondrial usada para los NADH citoplásicos), por lo que, como media, nos quedaremos con la cifra de 31 moles de ATP por mol de glucosa totalmente catabolizada. De ellos, aproximadamente un 20% se origina durante la glicólisis anaerobia y un 80% se aporta en la fase aerobia del proceso.

14.3 OTROS DESTINOS DEL PIRUVATO. FERMENTACIONES

El piruvato está situado en una verdadera encrucijada metabólica, y su destino depende, entre otros factores, de las condiciones aerobias o anaerobias existentes y de las características de las células donde se produce o a las que llega. Ya hemos dicho que en las células humanas, en condiciones anaerobias, el piruvato se reduce hasta lactato (la misma transformación que realizan las bacterias acidolácticas en la producción de yogur).

En otros organismos, la situación puede ser diferente, en algunos casos debido a que las enzimas del complejo *piruvato deshidrogenasa* no se encuentran físicamente unidas, por lo que los intermediarios respectivos pueden liberarse y acumularse en el medio. Así ocurre, por ejemplo, en las levaduras vínicas, en las que la enzima individual *piruvato deshidrogenasa*, también con función descarboxilasa, dependiente de pirofósforato de tiamina, produce acetaldehído y dióxido de carbono; el acetaldehído es reducido a etanol mediante la enzima *alcohol deshidrogenasa*, dependiente de NADH. En los seres humanos no opera esa primera enzima, *piruvato deshidrogenasa*, individualmente, pero sí poseemos una *alcohol deshidrogenasa* que nos permite metabolizar el alcohol ingerido hasta acetaldehído, posteriormente deshidrogenado a acetato mediante la *acetaldehído deshidrogenasa*.

En condiciones anaerobias, dependiendo de múltiples condicionamientos, diversos microorganismos conducen el piruvato hasta destinos diferentes a través de las denominadas *fermentaciones*, con productos finales de dos, tres (propionato), cuatro (butirato), etcétera, átomos de carbono.

En la Figura 14-5 se resumen algunos de estos posibles destinos metabólicos del piruvato.

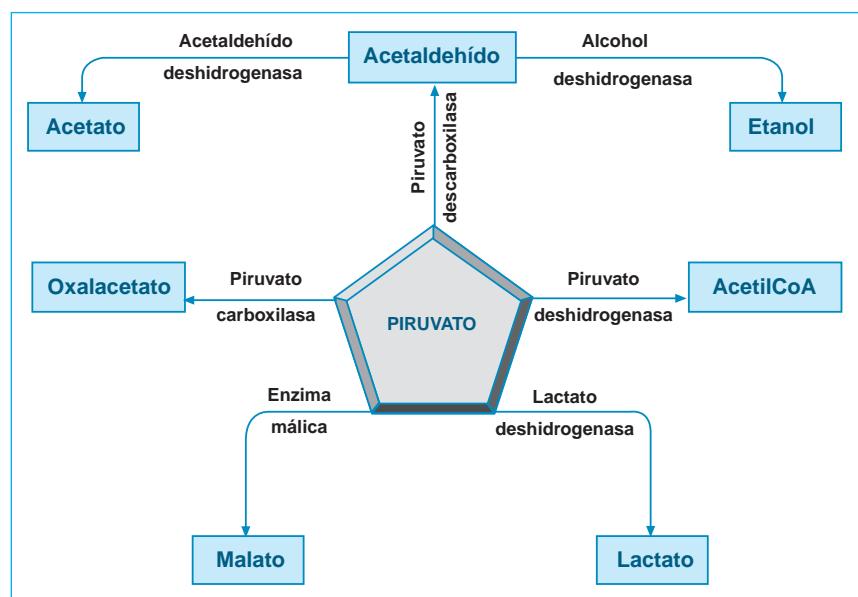


Figura 14-5. Destinos metabólicos del piruvato. El piruvato puede transformarse en múltiples productos de los que la figura muestra algunos, dependiendo de las condiciones del medio y de la expresión de la información genética en cada caso. En determinadas levaduras, hongos y bacterias, esos productos son finales y se acumulan (fermentaciones).

14.4 LA RUTA DE LAS PENTOSAS FOSFORILADAS

Durante cierto tiempo se fueron acumulando pruebas de que la glucosa, en ciertas condiciones, podía ser catabolizada hasta dióxido de carbono por una ruta diferente a la conocida de la glicólisis. En tales condiciones:

- Partiendo de glucosa con carbono 1 marcado radiactivamente, el primer CO_2 catabólico que aparecía estaba marcado, es decir, procedía de ese carbono y, además, se podía aislar gliceraldehído-3-fosfato no marcado. En la glicólisis aerobia (véase Fig. 14-1), el origen del primer dióxido de carbono es el carboxilo del piruvato, que procede de los carbonos 3 y 4 de la glucosa.
- A diferencia de la glicólisis (enzima *triosafosfato deshidrogenasa*), no existía dependencia respecto al fosfato.
- Se acumulaban pentosas fosforiladas, existían enzimas dependientes de NADP^+ y el proceso global, hasta dióxido de carbono, se realizaba totalmente en el citoplasma, siendo insensible al yodoacetato (que inhibe la *aldolasa glicolítica*) y al fluoruro (inhibidor de la *enolasa*).

Pronto quedó dilucidado un nuevo mecanismo, denominado *ruta de las pentosas fosforiladas* o *vía del fosfogluconato*. En la Figura 14-6 se han resumido algunas de las principales transformaciones de esta ruta, que comienza, al igual que la glicólisis, con la fosforilación de la glucosa hasta glucosa-6-fosfato. Las dos siguientes etapas son deshidrogenantes, catalizadas respectivamente por la *glucosa-6-fosfato deshidrogenasa* y la *6-fosfogluconato deshidrogenasa*, ambas dependientes de NADPH. Globalmente, por cada seis moléculas iniciales de glucosa (36 átomos de carbono) se obtienen 12 NADPH, así como seis CO_2 en el paso de descarboxilación irreversible, y seis unidades de una pentosa fosforilada (30 átomos de carbono), la ribulosa-5-fosfato.

A continuación, una serie de enzimas cataliza de forma reversible diversos reajustes entre los monosacáridos fosforilados, dando lugar a diferentes intermedios metabólicos —triosas, tetrosas, pentosas e, incluso, heptulosas fosforiladas— entre ellos, la *ribosa-5-fosfato*, esencial para la síntesis de los nucleótidos y los ácidos nucleicos. El producto final puede derivarse a cualquiera de esos intermedios, por ejemplo, llegar a cinco moléculas de fructosa-6-fosfato (30 átomos de carbono), isomerizables a cinco moléculas de glucosa-6-fosfato, por lo que, globalmente, es como si se hubiese degradado totalmente una sola molécula de glucosa-6-fosfa-

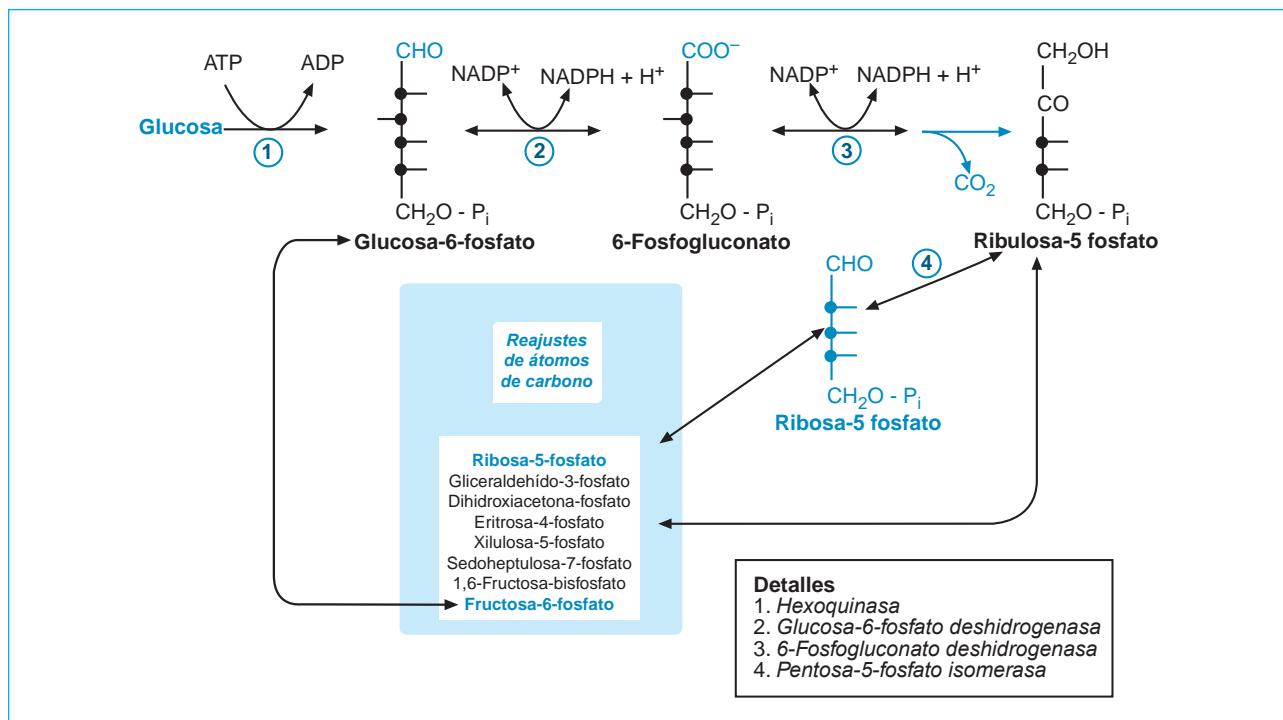
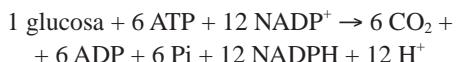


Figura 14-6. Esquema simplificado de la ruta de las pentosas fosforiladas. Las únicas etapas irreversibles son la de la quinasa y la de la descarboxilación. La degradación de la glucosa por la ruta descarboxilativa (parte superior del esquema) hace que el primer carbono que se libere sea el C1. La operatividad de las enzimas en la parte inferior del esquema permite la interconversión entre las formas fosforiladas de diversas triosas, tetrosas, pentosas, hexosas y heptosas.

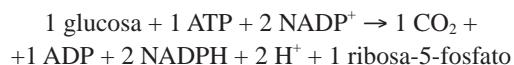
to hasta seis de CO₂, con lo que la ruta actuaría como un ciclo degradativo.

Algunos aspectos interesantes sobre esta ruta metabólica son los siguientes:

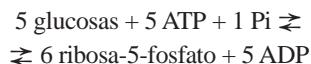
1. Considerando el ciclo como catabólico, se inicia con seis glucosas que se convierten en cinco fructosas-6-fosfato, desprendiéndose seis moléculas de CO₂ con la estequiometría:



2. El interés principal de la producción de NADPH no es de tipo energético, sino para que se utilice cuando se precise su aporte: biosíntesis de ácidos grasos o de esteroides, entre otros.
3. Si la ruta se usa para la obtención del metabolito ribosa-5-fosfato, partiendo de glucosa y siguiendo la ruta de descarboxilación, se cumple que:



4. Aunque el NADPH citoplasmático no se puede acoplar directamente a la fosforilación oxidativa, podemos compararlo desde el punto de vista energético con el NADH, lo que daría un rendimiento global por molécula de glucosa en condiciones aerobias de 30 (12 · 2.5) – 6 = 24 ATP, en el caso más favorable de lanzadera mitocondrial, o de 18 (12 · 1.5) – 6 = 12 ATP, en el más desfavorable.
5. Si se sigue la ruta reversible de los reajustes, sin descarboxilaciones (parte inferior del esquema), la estequiometría de la transformación es:



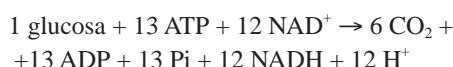
6. Como las dos únicas transformaciones poco reversibles son las iniciales, la catalizada por la hexoquinasa y la de descarboxilación, ello proporciona múltiples posibilidades de interconversión entre los diferentes intermedios fosforilados de triosas, tetrosas, pentosas, hexosas, etcétera.
7. En los eritrocitos, la enzima *glutatión reductasa* utiliza el NADPH para reducir el glutatión oxidado (GSSG) hasta glutatión reducido (GSH). El GSH, a su vez, reduce los peróxidos y la metahemoglobina que se pueda ir originando a partir de la hemoglobina, protegiendo la membrana y la funcionalidad del eritrocito. Se han descrito centenares de fallos moleculares en

la *glucosa-6-fosfato deshidrogenasa*, algunos de los cuales provocan graves carencias eritrocitarias de NADPH y afecciones más o menos graves, como ciertas anemias hemolíticas.

Todo ello señala la importancia funcional de la ruta de las pentosas fosforiladas. En el hepatocito, puede significar un 35% del catabolismo total de la glucosa, y por su acoplamiento con la síntesis de los ácidos grasos, esteroides y ácidos nucleicos, desempeña un gran protagonismo en el tejido adiposo, los testículos, la corteza suprarrenal y la glándula mamaria lactante, entre otros, mientras que su actividad es nula en tejidos muy aerobios, como el músculo cardíaco o el esquelético.

14.5 LA RUTA DEL GLUCURONATO

La *ruta del glucuronato* sería otra posibilidad para el catabolismo de la glucosa, a través de su conversión en ácido glucurónico. A partir de uno de sus intermedios, el L-gulonato, muchos seres vivos (pero no el ser humano, los primates y algunos otros animales) sintetizan el ácido ascórbico o vitamina C. En la ruta existe una etapa de descarboxilación, sobre el 3-cetogulonato, y al final se llega hasta xilulosa-5-fosfato que era, también, uno de los intermedios de la ruta de las pentosas fosforiladas, lo que permite enlazar las rutas y regenerar la glucosa. La Figura 14-7 expone de un modo simplificado el funcionamiento de la ruta, que si se completa con finalidad catabólica, parte de seis moléculas de glucosa que, por la descarboxilación, se reconvierten en cinco moléculas de la misma glucosa, con la estequiometría final:



La funcionalidad catabólica de esta ruta es bastante discutible y la principal importancia radica en el uso de parte de la ruta para producir UDP-glucurónato, que es el precursor de polisacáridos complejos, como el condroitinsulfato, el ácido hialurónico y la heparina, aparte de derivados como el UDP-galacturonato y el UDP-iduronato. Además, el UDP-glucurónato consigue, mediante enzimas hepáticas específicas, *UDP-glucurónil transferasas*, que el ácido glucurónico se conjugue, por su carbono 1, con diferentes compuestos a los que hace más solubles, facilitando su excreción por la orina. Entre las sustancias cuya solubilidad y excreción urinarias están mediadas por este mecanismo se encuentran la bilirrubina, diversos catabolitos esteroideos, la morfina y el ácido salicílico. En conjunto, al cabo de 24 horas, se suelen excretar unos 200 mg de ácido glucurónico.

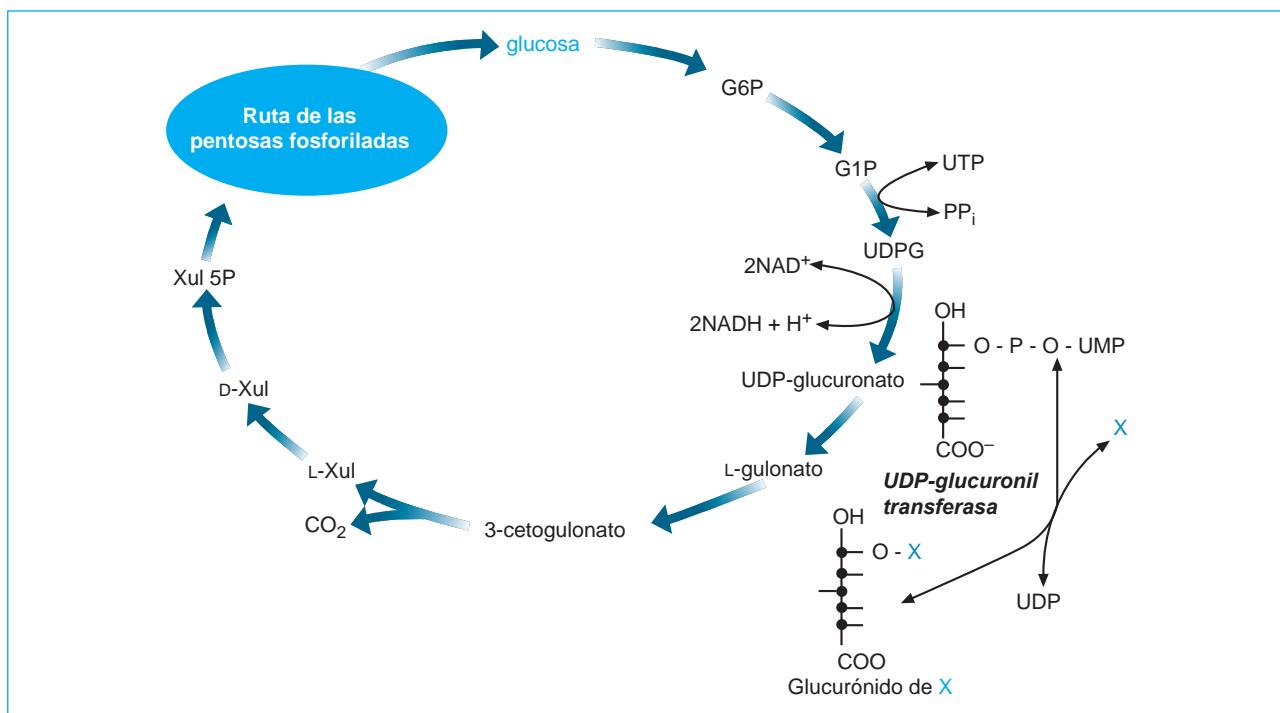


Figura 14-7. Ruta del glucuronato. Como ruta degradativa, el ciclo se iniciaría con la fosforilación de la glucosa. La descarboxilación se produce en el 3-cetogulonato, produciendo L-xilulosa, que ha de transformarse en D-xilulosa para permitir operar a las enzimas de la ruta de las pentosas fosforiladas. En el ciclo intervienen deshidrogenasas dependientes de NAD⁺ (etapas oxidativas) y de NADPH (etapas reductoras).

14.6 LA GLUCONEOGÉNESIS

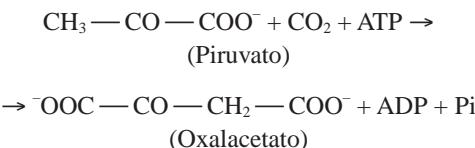
Muchas células utilizan la glucosa como sustrato energético casi único. Entre ellas se pueden incluir las cerebrales, los eritrocitos y las de órganos y tejidos como cristalino y córnea oculares, testículos, etcétera. Tan sólo el cerebro consume hasta 120 g diarios de glucosa. Como la glucemia alcanza sólo un valor aproximado de 1 g/L y las reservas hepáticas de glucógeno tienen una capacidad reducida de unos 100 g, ello significaría un grave problema tras un período de varias horas de ayuno o de falta de ingestión de hidratos de carbono, por lo que han de existir mecanismos eficaces de síntesis de glucosa a partir de precursores: la *gluconeogénesis*.

La gluconeogénesis se puede efectuar desde diversos intermedios. En un ayuno prolongado de varios días, agotadas las reservas glucídicas y tras las correspondientes adaptaciones metabólicas, las necesidades mínimas diarias de glucosa serían de unos 50 g, que han de originarse por gluconeogénesis. La mitad aproximadamente procede del glicerol de las grasas (los ácidos grasos no son gluconeogénicos) y la otra mitad, deriva de los aminoácidos proteínicos glucogénicos.

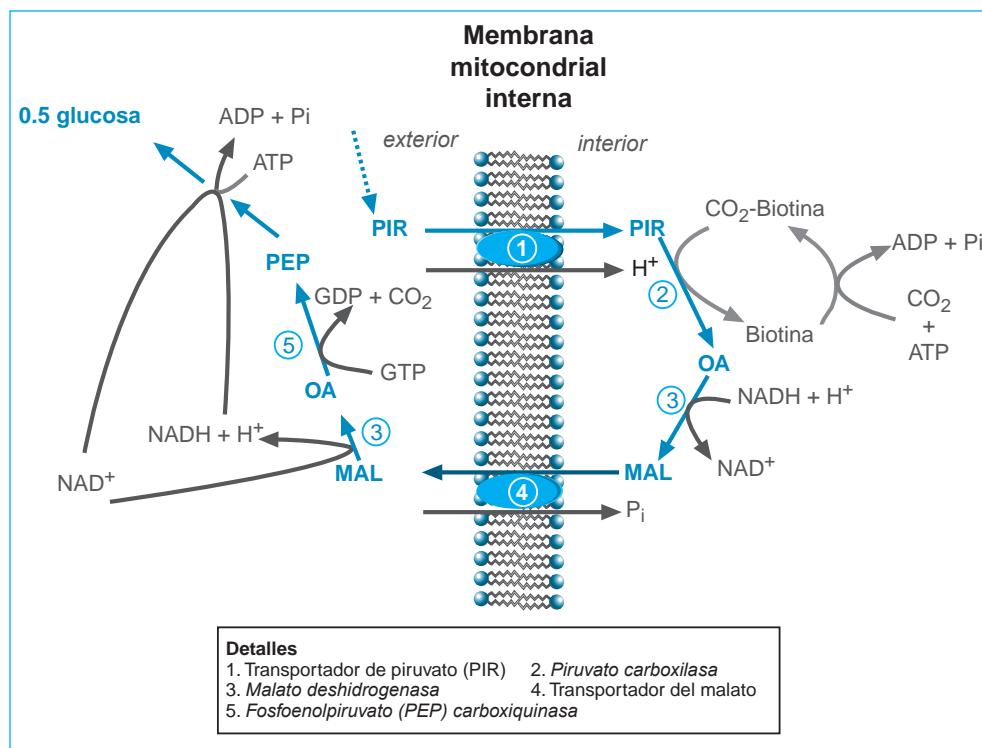
Al describir la glicólisis anaerobia, ya se han mencionado las dos enzimas gluconeogénicas *glucosa-6-fosfatasa* y

fructosa-1,6-bisfosfatasa (pasos 2 y 5 de la Fig. 14-1), que posibilitan la reversión de la glicólisis desde fosfoenolpiruvato hasta glucosa con el concurso del resto de las etapas glicolíticas reversibles. Las células hepáticas y, en menor cantidad, otras células, poseen otras dos enzimas gluconeogénicas que salvan la barrera energética que se opone a la conversión de piruvato en fosfoenolpiruvato. Con ello, el piruvato, o cualquier intermedio convertible en él mismo, se convierte en una sustancia gluconeogénica.

La enzima, básicamente mitocondrial, citada en el Capítulo 13 como ejemplo de actuación anaplerótica en el ciclo del citrato, es la *piruvato carboxilasa*, que cataliza la reacción (Fig. 14-8, paso 2):

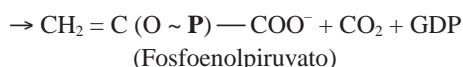
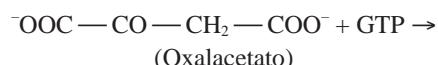


La actividad *piruvato carboxilasa* es intensa en los órganos gluconeogénicos, fundamentalmente el hígado y el riñón. De naturaleza alostérica, necesita la cooperación de la coenzima biotina, cuya carboxilación es previa a la del piruvato. Como



se comentará después, acetilCoA es un eficacísimo modulador positivo de la *piruvato carboxilasa*.

La enzima citoplasmática (aunque también existe una forma mitocondrial) es la *fosfoenolpiruvato carboxiquinasa*, regulable hormonalmente, que usa la energía de la hidrólisis del GTP y de la descarboxilación del oxalacetato para catalizar la formación de fosfoenolpiruvato:

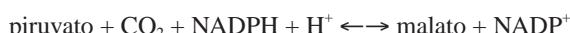


Como se indica en la Figura 14-8, la síntesis de glucosa a partir de piruvato implicaría la entrada de piruvato en la mitocondria y su conversión allí en oxalacetato. Para salvar la barrera de la membrana interna mitocondrial para el oxalacetato, se podría usar la lanzadera mitocondrial del malato (véase el Cap. 13). Una vez situado el oxalacetato en el citoplasma, la *fosfoenolpiruvato carboxiquinasa* lo transformaría en fosfoenolpiruvato, y desde fosfoenolpiruvato hasta glucosa todas las etapas son reversibles y comunes con la glicólisis, salvo las dos ya citadas que necesitan el concurso de las correspondientes fosfatasas. Por tanto, por cada mol de glucosa formada a partir de dos moles de piruvato, se requieren

dos moles de ATP (etapa de *piruvato carboxilasa*), dos moles de GTP (etapa de *fosfoenolpiruvato carboxiquinasa*) y otros dos moles de ATP (actuación de *fosfoglicerato quinasa*), es decir, un total equivalente a seis moles de ATP, aparte de haberse oxidado dos moles de NADH intramitocondrial. Cuando el precursor gluconeogénico es el lactato, los requerimientos energéticos son sólo de seis moles de ATP para cada mol de glucosa.

Al ser el oxalacetato un intermedio gluconeogénico, el resto de los intermedios del ciclo del ácido cítrico, convertibles en oxalacetato, también lo serán, y también lo es cualquier metabolito transformable en uno de tales intermedios, como ocurre con buena parte de los aminoácidos (véase el Cap. 16).

En relación con estas transformaciones citaremos otra enzima, la *enzima mólica* (dependiente de NADPH), con un posible papel anaplerótico y gluconeogénico ya que cataliza la siguiente reacción:



Las características cinéticas de esta enzima, su localización preferentemente citoplasmática y otras circunstancias, indican que su función principal es la opuesta: convertir el malato en piruvato y suministrar el NADPH necesario para otras rutas.

14.7 RELACIÓN HÍGADO/MÚSCULO. CICLO DE CORI

Las células musculares se alimentan de la glucosa de sus reservas glucogénicas y de la que les llega por la sangre procedente del hígado. Como carecen, al contrario que los hepatocitos, de la enzima *glucosa-6-fosfatasa*, no pueden exportar a la sangre glucosas procedentes de la glucogenólisis, lo que facilita que la glucosa muscular se fosforile en el interior de la célula a glucosa-6-fosfato y se someta a la glicólisis anaerobia. El músculo en reposo exporta a la sangre alanina, mientras que las células musculares en ejercicio, con intensa actividad glicolítica anaerobia, producen grandes cantidades de lactato, que la sangre, al igual que sucede con la alanina, transporta al hígado.

Esa circulación cíclica de glucosa y de lactato entre el hígado y el músculo en el caso de ejercicio se conoce como ciclo de Cori (Fig. 14-9), y posibilita la disponibilidad muscular de grandes cantidades de energía en poco tiempo, es decir, la realización de ejercicios intensos. Ello se debe a que aunque el rendimiento de la glicólisis anaerobia era sólo de dos ATP por cada glucosa transformada en dos lactatos, el concurso del hígado va a mejorar notablemente la situación. Como ejemplo cuantitativo, supongamos que partimos de 100 glucosas musculares. Una vez llegados al hígado los 200 lactatos, un 83% (166) de ellos puede dirigirse a la gluconeogénesis, y las necesidades energéticas para el proceso

($166 \cdot 3 = 498$ ATP) quedan compensadas por los ATP obtenidos en la oxidación aerobia hepática del 17% restante de lactatos (34 lactatos \cdot 15 ATP = 501 ATP), lo que significa que *gratuitamente* se recuperan 83 de las 100 glucosas iniciales. El resultado total es que realmente se han catabolizado entre el músculo y el hígado 17 glucosas, que en el músculo se han obtenido 200 ATP y que en el hígado, el balance energético está equilibrado, lo que significa que el rendimiento global es de casi 12 ATP por glucosa, con la ventaja de que esta colaboración interórganos permite una alta velocidad en la glicólisis anaerobia.

14.8 REGULACIÓN DE LA GLICÓLISIS Y LA GLUCONEOGÉNESIS

La glicólisis y la gluconeogénesis necesitan mecanismos precisos de control que garanticen que, en cada momento, prevalece la ruta necesaria en la cuantía precisa. Las mejores posibilidades reguladoras corresponden a las tres enzimas que catalizan las reacciones glicolíticas más irreversibles, así como a las enzimas gluconeogénicas necesarias para efectuar el camino inverso, lo que constituye en cada caso un llamado ciclo de sustrato (Fig. 14-10).

Hay otras etapas que también están sujetas a regulación, proceso en el pueden intervenir diversos mecanismos moleculares:

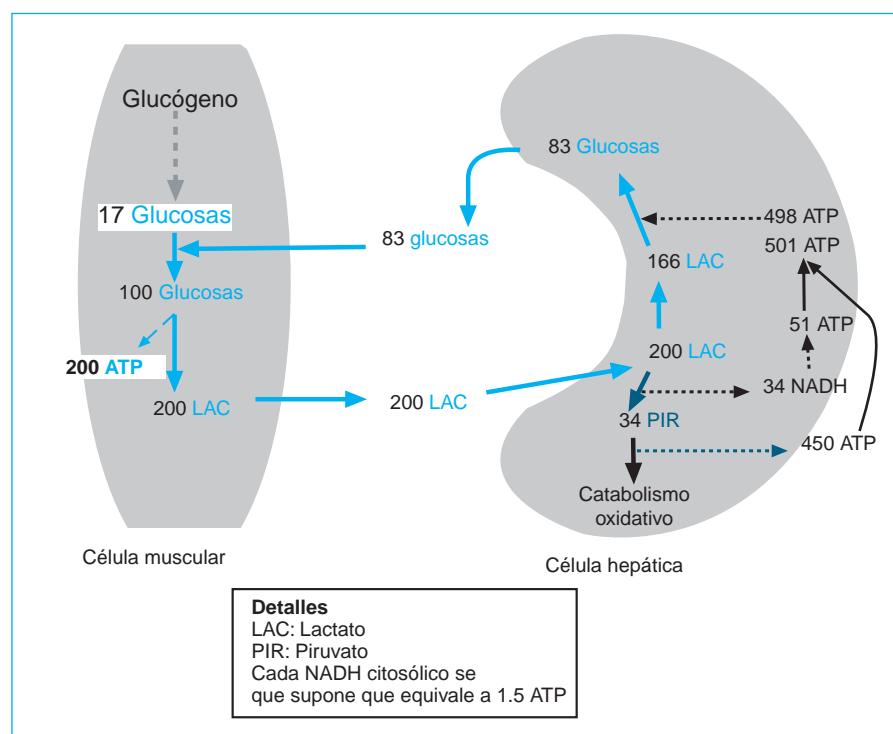


Figura 14-9. Ciclo de Cori. De los lactatos que importa el hígado procedentes del músculo, si se catabolizan aeróbicamente un 17% de ellos (34), se obtendrían 510 ATP, suponiendo las condiciones más desfavorables de equivalencia de 1.5 ATP por NADH citoplasmático. La gluconeogénesis del 83% de los lactatos (166) significaría el consumo de 498 ATP y la recuperación de 83 glucosas.

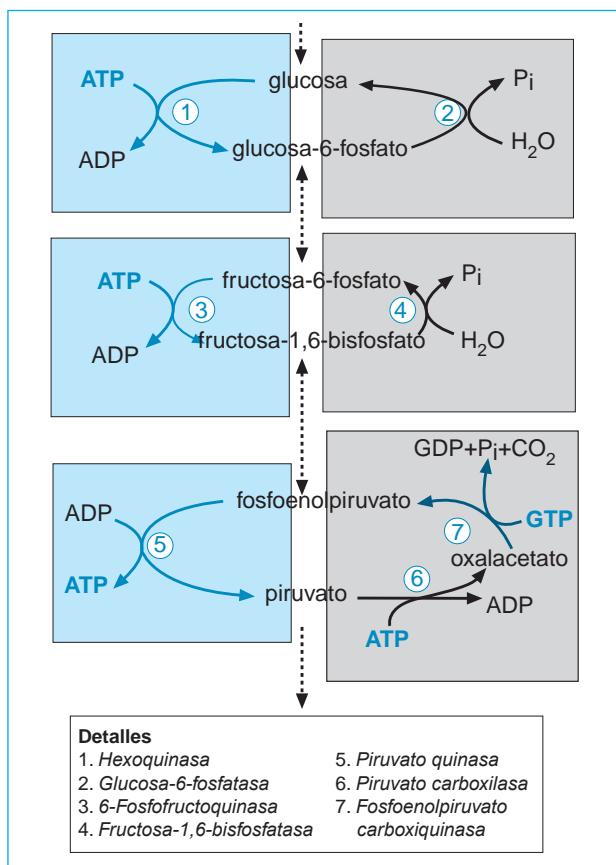


Figura 14-10. Los tres ciclos de sustrato que intervienen en la glicólisis y la gluconeogénesis. Una vuelta en el caso de la glucosa/glucosa-6-fosfato y de la fructosa-6-fosfato/fructosa-1,6-bisfosfato supone el consumo de un ATP. Una vuelta del ciclo fosfoenolpiruvato/piruvato necesita 2 ATP.

- La existencia de varias isoenzimas, con propiedades cinéticas distintas, para catalizar un mismo paso: *hexoquinasa, aldolasa, lactato deshidrogenasa*.
- Fosforilación/desfosforilación de las formas enzimáticas, afectando a su actividad: *piruvato quinasa, fructosa-1,6-bisfosfatasa*.
- Efectores allostéricos retroinhibidores o de tipo energético de metabolitos como glucosa-6-fosfato, ATP, citrato, H^+ , AMP, AcCoA.
- Regulación de la cantidad de ciertas hormonas según los niveles de glucemia. A su vez, las hormonas (insulina, glucagón y glucocorticoides, como el cortisol) pueden controlar: *a) la expresión de los genes codificadores de las enzimas clave; b) el estado de fosforilación/desfosforilación de una enzima; c) las concentraciones de efectores específicos, como la fructosa-2,6-bisfosfato, que, a su vez, actúan sobre el sistema de fosforilación/desfosforilación*.

Teniendo en cuenta todo lo anterior, podemos citar algunas características principales de las enzimas protagonistas de la regulación de la glicólisis y la gluconeogénesis:

14.8.1 Hexoquinasas

Existen al menos cuatro isoenzimas. La *glucoquinasa*, o *hexoquinasa IV*, a diferencia de las otras, es sólo hepática. Su K_m para glucosa es muy alta, es inducida por la insulina y no se inhibe por la glucosa-6-fosfato. Todo ello viene a señalar que las *hexoquinasas I, II y III* son glicolíticas, mientras que la *glucoquinasa* puede estar relacionada con la glucogenosíntesis (véase el apartado del metabolismo del glucógeno).

14.8.2 6-Fosfofructoquinasa

Esta enzima, también conocida como *fosfofructoquinasa 1*, es un ejemplo clásico de multimodulación, con numerosos y diferentes efectores allostéricos. En la Figura 14-11 se señalan los efectores negativos ATP, H^+ y citrato, y los positivos F6P y AMP. Por el contrario, la enzima gluconeogénica inversa, la *fructosa-1,6-bisfosfatasa*, se puede activar por ATP e inhibir por AMP. Otro mecanismo regulador muy importante se relaciona con el efecto hepático fructosa-2,6-bisfosfato, cuya concentración está regulada por una proteína que posee dos actividades, *fosfofructoquinasa 2* y *fructosa-2,6-bisfosfatasa*, y cuya fosforilación es gobernada por la hormona glucagón, a través del sistema *adenilato ciclase-AMPc*.

Todo ello hace que si la glucemia es alta (baja), el nivel de glucagón baje (suba), con lo que la *fosfofructoquinasa 2* se activa (inactiva) y la *fructosa-2,6-bisfosfatasa* se inactiva (activa), lo que conduce a un alto (bajo) nivel del efecto fructosa-2,6-bisfosfato y, con ello, a una activación (inactivación) de la *fosfofructoquinasa 1* glicolítica y a una inactivación (activación) de la *1,6-fructosa bisfosfatasa*. Con ello se consigue en el hepatocito un mecanismo muy preciso para que la velocidad de los flujos glicolíticos y gluconeogénicos, ante variaciones moderadas de efectores, hormonas, entre otros, responda con cambios drásticos para adaptarse a las demandas energéticas y materiales de cada caso. La regulación cardíaca es diferente, porque la isoenzima de fosfofructoquinasa 2 es distinta.

Por otra parte, mediante otros mecanismos específicos, el glucagón induce la transcripción de Ruvalinas gluconeogénicas, como PEP carbociquinasa y reprime la de enzimas glicolíticas como la fosfofructoquinasa 1. La insulina actúa de un modo opuesto al del glucagón.

14.8.3 Piruvato quinasa

Existen dos isoenzimas principales allostéricas: L de *liver* (hígado) y M de *muscle* (músculo). Entre los efectores de

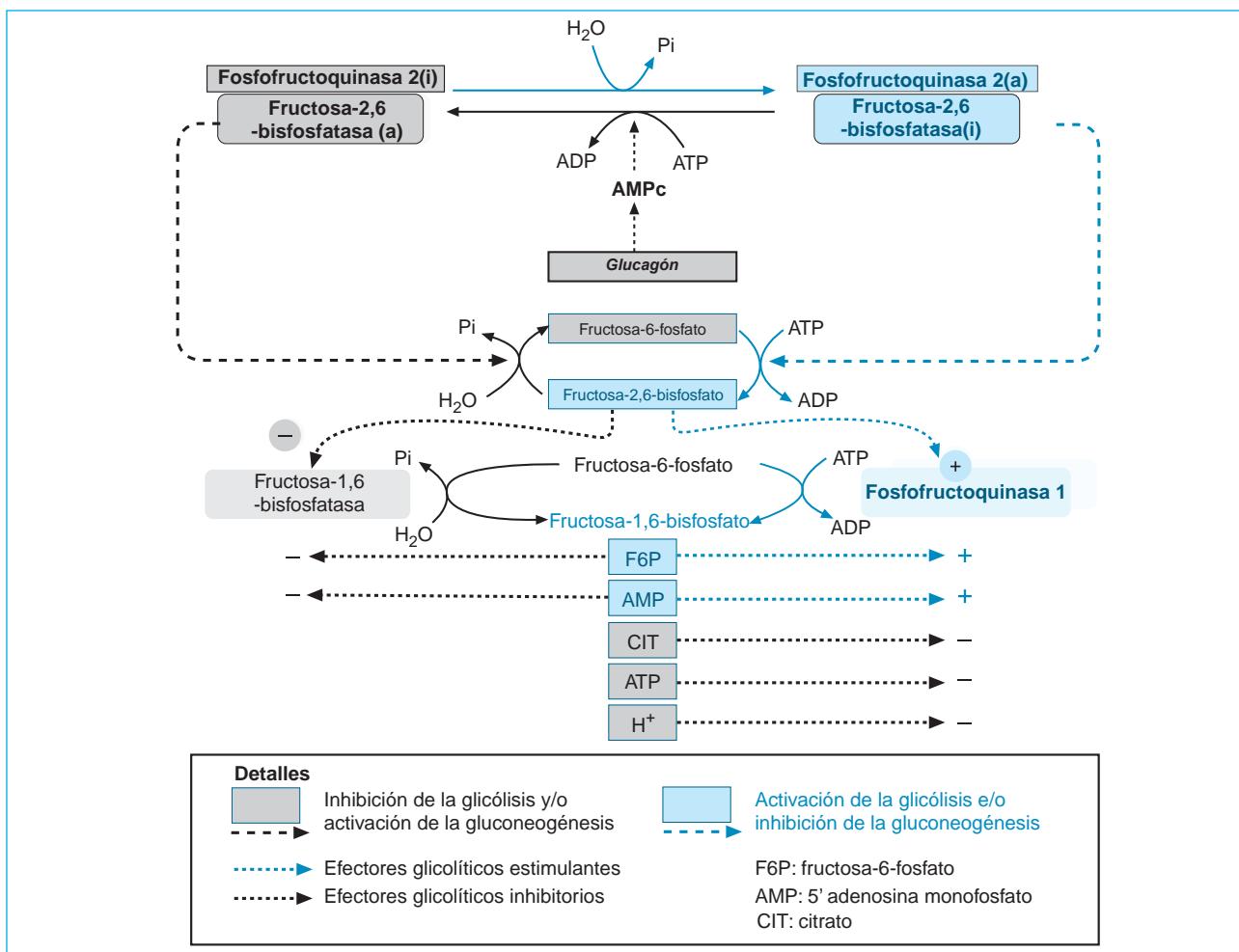


Figura 14-11. Regulación de la fosfofructoquinasa 1. En azul se destacan los efectores y acciones cuya consecuencia final es estimuladora hacia fosfofructoquinasa 1, favoreciendo la glicólisis. En gris, los que favorecen la actuación de la fructosa-1,6-bisfosfataza, estimulando la gluconeogénesis.

ambas formas, algunos son comunes con los de la fosfofructoquinasa 1. Los principales son: fructosa-1,6-bisfosfato y AMP (activadores) y ATP, alanina y acetilCoA (inhibidores). La isoenzima L puede ser fosforilada por la proteína quinasa dependiente del AMPc. La fosforilación dependiente del glucagón (más abundante cuando la ingestión de glucidos es baja) hace que la enzima pierda afinidad por su sustrato fosfoenolpiruvato. Además de ello, la enzima está sujeta a una posible inducción de su síntesis por la insulina (ingestión elevada de hidratos de carbono).

14.8.4 Lactato deshidrogenasa

Esta enzima tetramérica posee dos tipos de subunidades, la M de *muscle* (músculo) y la H de *heart* (corazón), de modo que puede presentar cinco isoenzimas: M₄, M₃H, M₂H₂, MH₃

y H₄, cuyo perfil electroforético de distribución es característico en cada órgano o tejido, siendo muy útil su determinación en Bioquímica clínica.

Algunas características cinéticas, como afinidad hacia los sustratos o inhibición por exceso de piruvato, difieren entre las isoenzimas. Esto hace que M₄ favorezca el paso desde piruvato a lactato, lo que significa que en el músculo en ejercicio se facilita la glicólisis anaerobia hasta lactato y su exportación al hígado, mientras que H₄ facilita la transformación contraria, haciendo que el piruvato se acumule y se dirija hacia su metabolismo aerobio.

14.8.5 Piruvato deshidrogenasa (PDH)

Es un complejo enzimático clave para la regulación del flujo catabólico. En la Figura 14-12 se indican algunos de los fac-

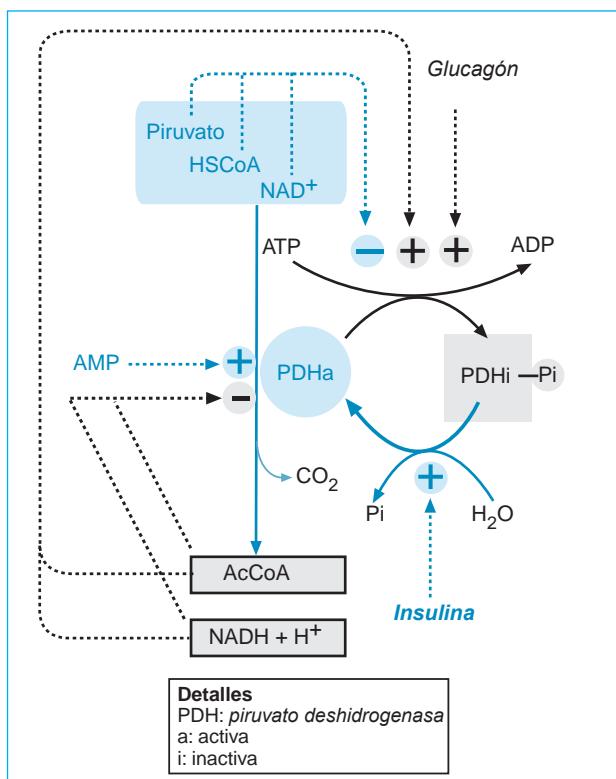


Figura 14-12. Regulación del complejo piruvato deshidrogenasa. En azul, efectores y acciones estimulantes. En gris, los inhibidores. Los efectores actúan bien sobre la propia enzima o bien sobre la quinasa que la fosforila. Las hormonas controlan la fosforilación/desfosforilación de la enzima. El color azul significa estimulación del complejo; el color gris, inhibición del complejo.

tores importantes en su control: efectores alostéricos y modificación covalente. La subunidad deshidrogenasa puede modificarse covalentemente, con una forma más activa, desfosforilada, y otra menos activa, fosforilada, interconvertibles entre sí por medio de las correspondientes *quinasa* y *fosfatasa*, enzimas que también forman parte del complejo.

Las relaciones NADH/NAD⁺ y AcCoA/HSCoA son esenciales para la regulación alostérica, al igual que sucede con la retroinhibición ocasionada por AcCoA y NADH sobre la propia enzima.

Además, también se puede regular por esos mismos efectores, la *quinasa* inactivadora, que es activada por los productos de PDH e inhibida por los sustratos de PDH, mientras que la acción hormonal de insulina y catecolaminas (sobre todo, en el músculo) favorece la desfosforilación o activación de la enzima.

Por todo ello, el control de la *piruvato deshidrogenasa* es determinante para fijar el destino del piruvato. Condiciones de alta disponibilidad de piruvato, bajas relaciones NADH/NAD⁺ y AcCoA/HSCoA, así como baja carga energética (poco ATP;

mucho AMP), o presencia de las señales hormonales de insulina (glucemia alta) y catecolaminas (necesidad energética inmediata) hacen que el piruvato siga la vía oxidativa a través de su paso a acetilCoA. Por el contrario, si existe una elevada concentración de ATP, ocasionada por un alto catabolismo de ácidos grasos, o elevadas relaciones NADH/NAD⁺ y AcCoA/HSCoA, o una glucemia reducida (poca producción de insulina), se dificulta el funcionamiento de la *piruvato deshidrogenasa*, por lo que el piruvato, como vimos anteriormente, tenderá a convertirse en oxalacetato y desde éste dirigirse hacia la formación de glucosa.

14.8.6 Piruvato carboxilasa

El comportamiento alostérico más interesante de esta enzima es su gran activación por acetilCoA. Como se acaba de señalar, el acetilCoA es un inhibidor potente de la enzima *piruvato deshidrogenasa*. Por tanto, si imaginamos una situación metabólica de baja disponibilidad de hidratos de carbono, pero con facilidad para obtener energía del catabolismo de los ácidos grasos convertibles en acetilCoA, evidentemente sería conveniente la transformación de sustancias gluconeogénicas, como piruvato, hasta glucosa, lo que se consigue gracias a que la abundante acetilCoA activa la *piruvato carboxilasa* e inhibe la *piruvato deshidrogenasa*. Otra circunstancia metabólica imaginable es que la acumulación de acetilCoA se deba a una insuficiencia de oxalacetato, necesario para su condensación y entrada al ciclo del ácido cítrico. En este caso, las dos acciones, activadora e inhibitoria, de la acetilCoA sobre la *piruvato carboxilasa* y la *piruvato deshidrogenasa*, respectivamente, estimularán la ruta anaplerótica de producción de oxalacetato y, por otra parte, reducirán la concentración de acetilCoA.

14.8.7 Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa

Dada su relativamente alta K_m por el oxalacetato, la disponibilidad de este metabolito es un elemento regulador importante de su actividad. La síntesis de la enzima está controlada hormonalmente, favoreciéndose por glucagón (AMPc) y glucocorticoides, mientras que se dificulta por la insulina.

14.8.8 Fructosa-1,6-bisfosfatasa

Ya se ha dicho que está regulada por señales energéticas: el AMP la inhibe fuertemente; pero, sobre todo, es bloqueada por el efector fructosa-2,6-bisfósfato. El glucagón favorece la síntesis de la enzima.

14.8.9 Glucosa-6-fosfatasa

Esta enzima gluconeogénica está ausente en el músculo y el cerebro. Su alta K_m para la glucosa-6-fósfato hace que este

Tabla 14-2. Principales agentes reguladores de la glicólisis (G) y la gluconeogénesis (N)

	Enzimas glicolíticas					Enzimas gluconeogénicas				Efecto global	
	HK	PFK	PK	PDH	PC	PEPCK	FBP	G6Pasa	G	N	
Glucagón	—	—	—		+	+	+	+	—	+	
Glucocorticoïdes						+		+	—	+	
ATP		—	—		+		+		—	+	
Citrato	—									—	
NADH				—						—	
G6P	—									—	
H ⁺		—				+			—	+	
Insulina	+ (IV)		+	+	—	—	—	—	+	—	
F6P		+								+	
1,6-FBP			+							+	
2,6-FBP		+					—		+	—	
AMP		+	+				—		+	—	
AcCoA				—	+				+	—	

HK: Hexoquinasa; PFK: Fosfofructoquinasa-1; PK: Piruvato quinasa; PDH: Piruvato deshidrogenasa; PC: Piruvato carboxilasa; PEPCK: Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa; FBP: Fructosa-1,6-bisfosfatasa; G6Pasa: Glucosa-6-fosfatasa; 1,6-FBP: Fructosa-1,6-bisfosfato; 2,6-FBP: Fructosa-2,6-bisfosfato.

metabolito sea un elemento regulador. El control hormonal se realiza por insulina (represión) y por glucagón y glucocorticoïdes (inducción).

En resumen, la glicólisis y la gluconeogénesis son procesos muy regulados y, frecuentemente, los agentes que activan uno de ellos, inactivan el otro.

Entre los efectores principales (Tabla 14-2) se encuentran los energéticos, de manera que altos niveles de citrato o de la relación ATP/ADP estimulan la gluconeogénesis y dificultan la glicólisis. El efector fructosa-2,6-bisfosfato, originado a partir del intermedio glicolítico fructosa-6-fosfato y regulado hormonalmente, es un ejemplo de alta eficacia. Los protones también son moduladores de la glicólisis (inhibición de fosfofructoquinasa) y de la gluconeogénesis (inducción de la síntesis de PEPCK renal). Esta situación aparece, por ejemplo, como consecuencia de una gran producción de ácido láctico en un ejercicio muscular intenso.

El control hormonal (Fig. 14-13), a través de los mecanismos estudiados en el Capítulo 12, se suele realizar de forma simultánea y contrapuesta sobre ambas vías metabólicas y, a su vez, la síntesis hormonal depende de los propios niveles de hidratos de carbono, la glucemia, constituyendo un sistema muy preciso de control mutuo.

En los organismos fotosintéticos existe otro importante proceso metabólico relacionado con el metabolismo de hidratos de carbono. Se trata del ciclo de Calvin, mediante el cual se incorpora el dióxido de carbono para formar una hexosa (Recuadro 14-1).

14.9 EL GLUCÓGENO

14.9.1 Glucógeno como reserva metabólica energética

El glucógeno se almacena en el citoplasma celular de diversos órganos y tejidos, como el hígado y el músculo, en forma de gránulos discretos asociados a las enzimas de su propio metabolismo. Las reservas hepáticas y musculares de glucógeno desempeñan papeles biológicos diferentes.

En el hígado, la reserva de glucógeno puede alcanzar los 100 g/kg, con moléculas de hasta 10⁹ Da de tamaño. Su papel principal consiste en la regulación de la glucemia, por lo que es muy dependiente de la ingestión de hidratos de carbono, mientras que se ve poco afectado por el ejercicio. Tras una abundante ingestión de glúcidios, la glucemia se eleva tan sólo un poco, desde 1 a 1.3 g/L, puesto que la mayor parte de la glucosa tomada se transformará en reservas de glucógeno.

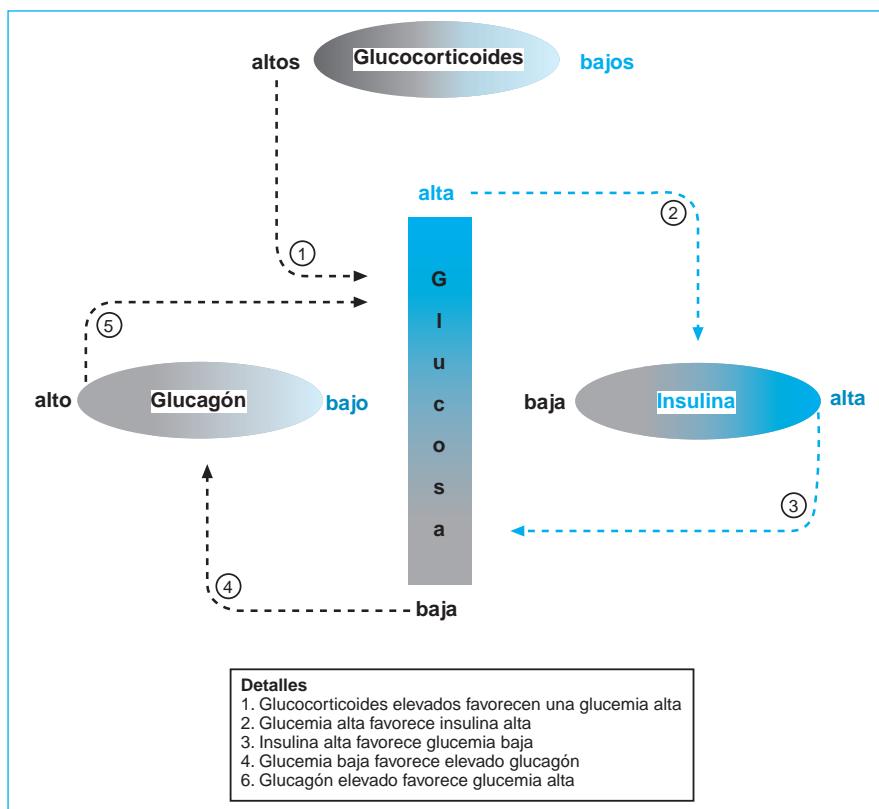


Figura 14-13. Interrelaciones entre el metabolismo de los hidratos de carbono y algunas hormonas. El color azul indica que se favorece la glicólisis, mientras que el gris, señala que el proceso favorecido es la gluconeogénesis.

En cuanto al glucógeno muscular, posee tamaños de hasta $2 \cdot 10^7$ Da, se localiza preferentemente en el músculo blanco, más anaerobio, es escaso en el rojo y apenas existe en el cardíaco. El hecho de que las células musculares carezcan de actividad *glucosa-6-fosfatasa* impide que el glucógeno muscular tenga un papel significativo en el mantenimiento de la glucemia, siendo menos dependiente que el hepático de las variaciones en la ingestión glucídica. El glucógeno muscular se ve afectado principalmente por el ejercicio, de modo que tras una hora de cierto nivel de actividad física, su agotamiento es prácticamente total.

Como el glucógeno posee una naturaleza muy hidrofílica sus depósitos citoplásmicos tienen asociadas, por enlaces de puente de hidrógeno, moléculas de agua, de modo que por cada gramo de depósito húmedo de glucógeno, sólo aproximadamente una tercera parte corresponde al propio glucógeno, lo que significa una potencialidad energética equivalente a unos 0.15 g de depósito graso hidrofóbico. Si, a igualdad de peso, los depósitos grasos son unas 7 veces superiores energéticamente a los del glucógeno húmedo, ¿cuáles pueden ser las ventajas de las reservas de glucógeno? ¿Por qué no guardar la glucosa como tal, en el interior de la célula, en lugar de convertirla en glucógeno? En primer lugar, hay que señalar que la glucosa pierde muy poca capacidad energética al almacenarse como polisacárido. Además,

las reservas de glucógeno, por su naturaleza y magnitud molecular, osmóticamente son casi inertes, mientras que su concentración equivalente de glucosa libre sería superior a 400 mM, lo que significaría una actividad osmótica en el hígado que haría imposible la viabilidad celular. Más aún, a cambio de la pequeña pérdida energética sufrida, las ventajas metabólicas y operacionales son obvias:

1. Los triacilgliceroles, al no poder convertir sus ácidos grasos (aproximadamente, el 85% de la masa total) en hidratos de carbono, no son adecuados para controlar la glucemia. Su catabolismo es mitocondrial, lo que hace que la movilización de las grasas sea un proceso lento, inadecuado para resolver emergencias. Por el contrario, la glucogenólisis acoplada a la glicólisis anaerobia es un mecanismo extraordinariamente rápido de respuesta ante una demanda energética.
2. Ciertas células, como las cerebrales, consumen y metabolizan glucosa preferentemente.
3. En condiciones de limitación de disponibilidad de oxígeno, las grasas no pueden ser catabolizadas.

Si resumimos la energética del almacenamiento de glucosa como glucógeno, cada glucosa necesita dos ATP para incorporarse al glucógeno (paso a G6P y acción de la uridiltransferasa), el 90% de las unidades de glucosa en forma

Recuadro 14-1. EL CICLO DE CALVIN

Los organismos fotosintéticos pueden aprovechar las coenzimas reducidas y el ATP obtenidos durante las fases luminosas de la fotosíntesis (véase el Cap. 13) para incorporar dióxido de carbono y sintetizar hidratos de carbono.

El proceso ocurre en el estroma del cloroplasto. Por cada seis moléculas de CO₂ que se usan para carboxilar la ribulosa-1,5-bisfosfato, se obtiene una ganancia neta de dos gliceraldehído-3-fosfato, con los que se puede obtener una fructosa-1,6-bisfosfato. Ello ha de realizarse a expensas de 12 NADPH y 18 ATP (véase Fig. 14-14).

El primer paso del ciclo de Calvin es la fijación del CO₂ condensándose con una molécula de la cetopentosa ribulosa-1,5-bisfosfato para dar un intermedio inestable de seis átomos de carbono, que se transforma rápidamente en dos moléculas de 3-fosfoglicerato. La enzima *ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa*, frecuentemente abreviada como *rubisco*, se localiza en la superficie que da al estroma de las membranas tilacoides, representando más del 15% de las proteínas cloroplásticas. Posee dos tipos de cadenas, L y S, que se agrupan, ocho de cada tipo, para conformar la enzima. La cadena L posee un centro catalítico y otro regulador y la cadena S actúa de moduladora. Es la enzima limitante del ciclo.

A partir del gliceraldehído-3-fosfato, el resto de una amplia serie de reacciones tienen dos finalidades: 1) obtener una molécula de hexosa y 2) recuperar la 1,5-ribulosa-bisfosfato. Comenzando con esta última tarea, las enzimas *3-fosfoglicerato quinasa* y *NADP⁺-gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa*, idénticas o muy semejantes a las enzimas análogas que se vienen en la glicólisis anaerobia, son las encargadas de la sucesiva transformación del sustrato a 1,3-bisfosfoglicerato y gliceraldehído-3-fosfato (GA3P). Suponiendo que hubiésemos partido de 6 moléculas de RuBP (30 átomos de carbono), su carboxilación hubiera conducido a 12 molé-

culas de GA3P. De ellas, 10 moléculas (30 átomos de carbono) se van a utilizar para la recuperación de la RuBP, mediante enzimas análogas a las que participan en la ruta de las pentosas fosforiladas, entre las que se incluyen *transaldolasa* y *transacetolasa*, que pueden realizar una serie de reajustes entre las diversas moléculas, partiendo del gliceraldehído-3-fosfato que posibilitan la obtención de diversas triosas, tetrosas, pentosas, hexosas y heptosas. Entre ellas se encuentran la ribosa-5-fosfato y la xilulosa-5-fosfato. En conclusión, los 30 átomos de carbono de los 10 GA3P, tras las sucesivas transformaciones, se convierten en dos moléculas de Rib5P y 4 moléculas de Xul5P.

Con la actuación de las enzimas Rib5P isomerasa y Ru5P isomerasa, ello conduce a la obtención de 6 moléculas de Ru5P, que son fosforiladas por la quinasa correspondiente para volver a obtener las seis moléculas de partida de RuBP, cerrándose el ciclo.

En cuanto al resto de las dos moléculas de GA3P, son las que con las enzimas *triosasa-fosfato isomerasa* y *aldolasa*, permiten obtener una molécula neta de hexosa en forma de fructosa-1,6-bisfosfato.

La actividad de la *rubisco* es modificable por diversas señales metabólicas, entre ellas, la concentración de protones y de iones magnesio que aumenta en las etapas luminosas fotosintéticas.

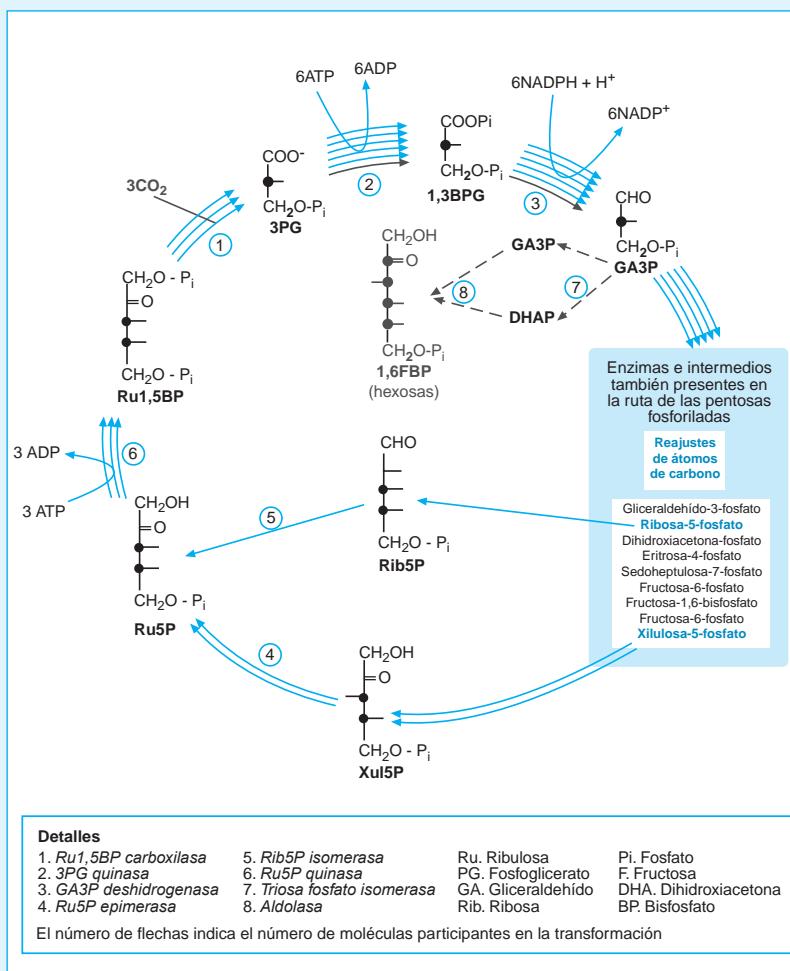


Figura 14-14. Ciclo de Calvin.

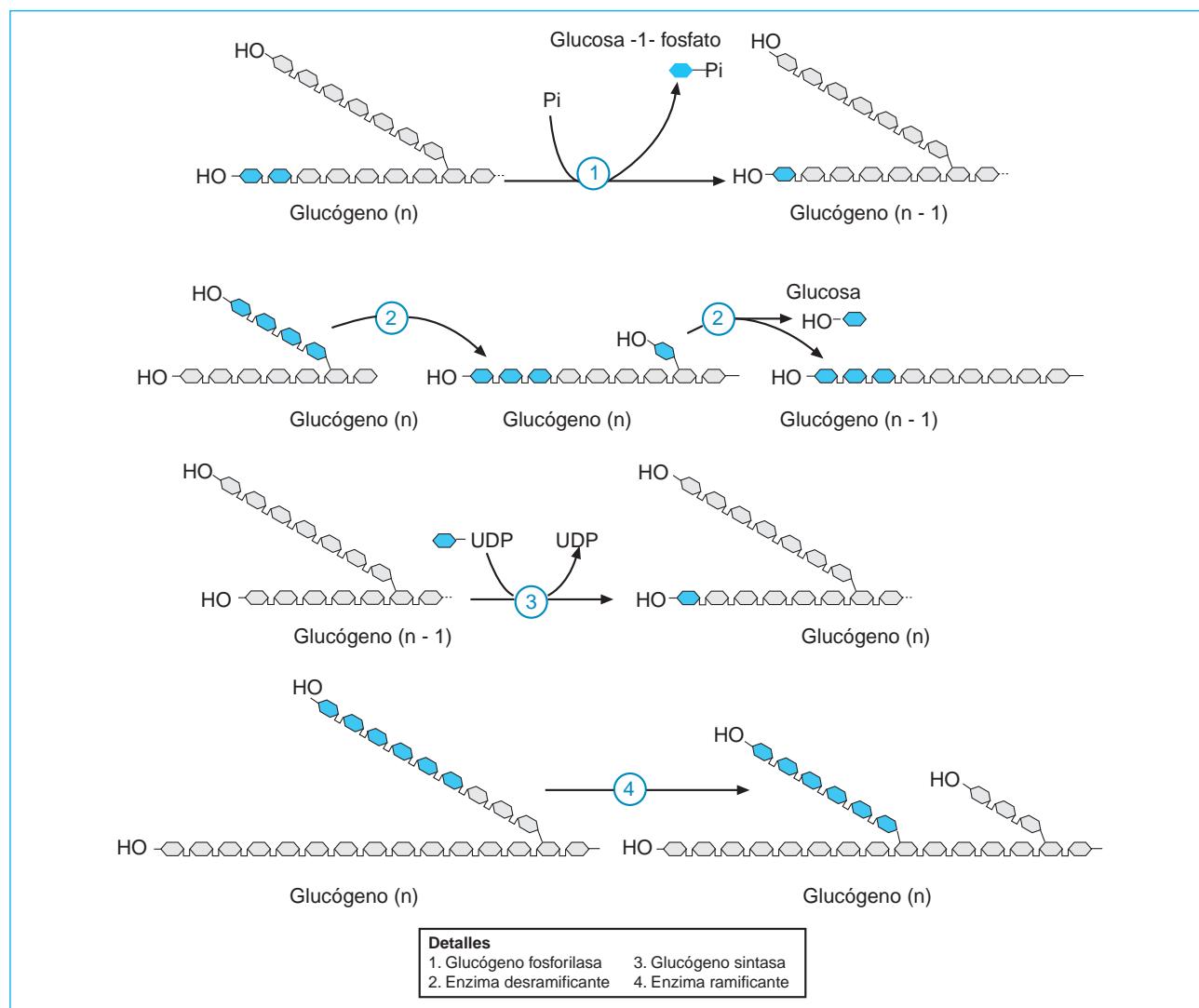


Figura 14-15. Principales enzimas participantes en el metabolismo del glucógeno.

de glucógeno podrían proporcionar 32 ATP y un 10% daría 31 ATP. Si ello se compara con los 31 ATP proporcionados por una glucosa libre, el resultado final es que las ventajas funcionales y osmóticas del almacenamiento de glucosa como glucógeno desde el punto de vista energético, suponen una pequeña pérdida de potencialidad de alrededor del 5%.

14.9.2 Enzimas del metabolismo del glucógeno

En la Figura 14-15 se resumen las principales transformaciones relacionadas con el glucógeno y las enzimas participantes. Para comprenderlas, conviene recordar la estructura molecular del glucógeno (véase el Cap. 5) con su mayoría de enlaces $\alpha(1 \rightarrow 4)$ y sus ramificaciones $\alpha(1 \rightarrow 6)$.

Glucógeno fosforilasa

Esta enzima, en presencia de fosfato, hidroliza un enlace $\alpha(1 \rightarrow 4)$ glicosídico, liberándose glucosa en la forma fosforilada de G1P, lo que asegura su confinamiento intracelular. El cambio de energía libre estándar es pequeño, por lo que la reacción es muy reversible. *In vivo*, la elevada relación intracelular Pi/G1P favorece el sentido de la hidrólisis. La enzima, que depende del fosfato de piridoxal, comienza su actuación sobre los extremos no reductores de las moléculas de glucógeno, pero impedimentos estéricos le obligan a interrumpir su acción cuando se acerca a cuatro unidades de glucosa anteriores a una ramificación. La molécula resultante del glucógeno, tras la actuación exhaustiva de la glucógeno fosforilasa se denomina *dextrina límite*.

Enzima desramificante: amilo-1,6-glucosidasa

Esta enzima posee dos centros catalíticos, y cataliza dos reacciones diferentes y sucesivas cuando actúa sobre moléculas del tipo de la dextrina límite. En primer lugar, su función *glucosiltransferasa* transfiere tres de las cuatro unidades de glucosa de la ramificación hasta el extremo de otra cadena, formando el correspondiente enlace $\alpha(1 \rightarrow 4)$. La segunda reacción es hidrolítica, sobre el enlace $\alpha(1 \rightarrow 6)$, liberando, sin fosforilar, la cuarta unidad de glucosa de la bifurcación.

Glucógeno sintasa

Esta enzima forma nuevos enlaces glicosídicos $\alpha(1 \rightarrow 4)$ por adición sucesiva, sobre extremos no reductores de glucógeno, de moléculas de glucosa, previamente activadas en forma de UDPG. La enzima actúa preferentemente si la cadena posee al menos cuatro residuos de glucosa desde la bifurcación. La UDPG (Fig. 14-16) se forma a partir de glucosa-1-fosfato (que puede proceder de la glucosa-6-fosfato, por acción de la *fosfoglucomutasa*) y de UTP, en una reacción catalizada por la enzima *UDP glucosa pirofosforilasa* (también, denominada *UTP-GIP uridil transferasa*).

Enzima ramificante

Para conseguir la ramificación final del glucógeno, esta enzima ejerce su función sobre cadenas de una longitud mínima de 9 unidades de glucosa (9 a 15), separando un bloque de 5 a 9 unidades para formar un enlace $\alpha(1 \rightarrow 6)$ sobre otra rama cercana, en un punto que esté alejado de la ramificación en, al menos, cuatro unidades de glucosa.

En la Figura 14-16 se resumen, en forma gráfica, las principales enzimas que participan en el metabolismo del glucógeno.

14.9.3 Metabolismo del glucógeno

Las dos principales enzimas del metabolismo del glucógeno, *glucógeno fosforilasa* y *glucógeno sintasa*, se caracterizan por poseer varias subunidades, ser modificables allostéricamente y

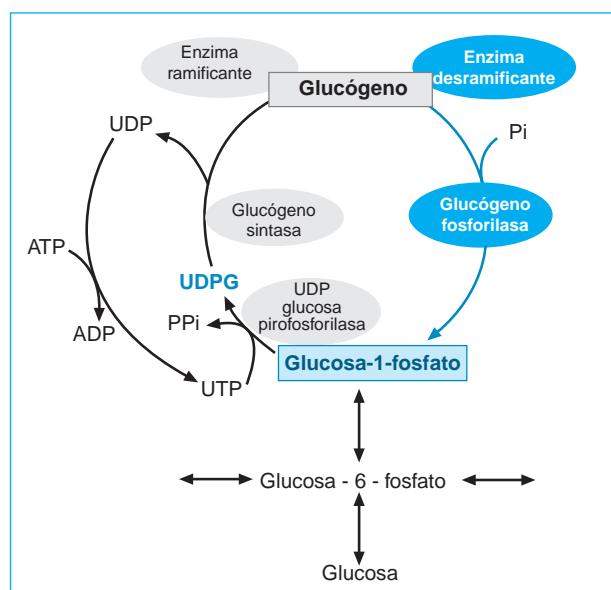


Figura 14-16. Esquema global del metabolismo del glucógeno.

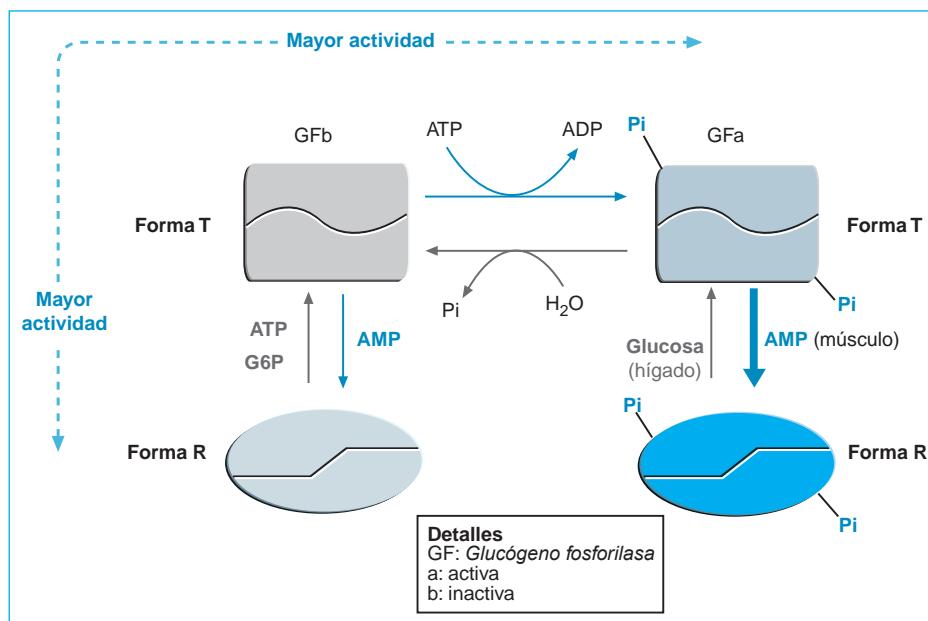
sufrir fosforilaciones/desfosforilaciones reguladas hormonalmente. Esto permite que, frecuentemente, una señal metabólica ejerza efectos opuestos simultáneos sobre ambas enzimas, produciéndose una regulación coordinada de glucogenólisis y glucogenosíntesis. Aunque las transformaciones metabólicas del glucógeno muscular y hepático son esencialmente las mismas, como sus papeles metabólicos son diferentes, también varía la naturaleza de los reguladores (Tabla 14-3), siendo predominantes, en el hígado, los referentes a los niveles de glucemia, mientras que en el músculo priman los relativos a la situación energética (niveles AMP/ATP).

Como ejemplo de modulación de la actividad de las enzimas implicadas en el metabolismo del glucógeno, en la Figura 14-17 se expone un resumen de los efectores alostéricos de la *glucógeno fosforilasa* y de los que afectan a su fosforilación por la *glucógeno fosforilasa quinasa*, pudiéndose comprobar que, aunque la fosforilación es muy importante

Tabla 14-3. Moduladores del metabolismo del glucógeno en el hígado y el músculo

	<i>Hígado</i>		<i>Músculo</i>	
Efectores		Glucosa	AMP Glucógeno	ATP Glucosa-6-fosfato
Calcio y hormonas	Glucagón Adrenalina (α_1), Ca(II)	Insulina	Calmodulina, Ca(II) Adrenalina (β)	Insulina

En las celdas azules están situados los moduladores que estimulan la glucogenólisis o impiden la glucogenosíntesis. Los moduladores de las celdas grises ejercen los efectos opuestos.



para conseguir la mayor actividad posible, también lo es el concurso del efector AMPc, sobre todo en el músculo. Por el contrario, el ATP y la glucosa favorecen las formas T inactivas respecto a las R activas. Los efectos reguladores del calcio en el músculo se evidencian por el hecho de que una de las subunidades de la enzima *glucógeno fosforilasa quinasa* es la proteína calmodulina, dependiente del calcio.

Dentro de la compleja regulación del metabolismo del glucógeno, en la Figura 14-18 se resumen e integran los aspectos más importantes, referidos a las enzimas *glucógeno fosforilasa* y *glucógeno sintasa*. Mientras que la forma fosforilada de la *glucógeno fosforilasa* es la activa, para la *glucógeno sintasa* sucede lo contrario, por lo que a través de la modulación de los mecanismos de fosforilación (desfosforilación), se favorece (dificulta) la glucogenólisis y se dificulta (favorece) la glucogenosíntesis. La fosforilación de ambas enzimas está mediada por el sistema en cascada dependiente del AMPc (véase el Cap. 12). Una hormona, como la adrenalina, en el músculo o el glucagón en el hígado, a través de la proteína quinasa A, puede fosforilar y activar proteínas como la *glucógeno fosforilasa quinasa*, que, a su vez, es el catalizador que fosforila a la *glucógeno fosforilasa* (activándola) y, en parte, a la *glucógeno sintasa* (inactivándola) (Fig. 14-18).

Otro sistema análogo paralelo, asimismo dependiente del AMPc, puede hacer que se active o desactive un inhibidor específico de la *proteína fosfatasa 1*, enzima que desfosforila las formas fosforiladas de las dos enzimas principales involucradas en el metabolismo del glucógeno. Integrando todas las acciones, el resultado es que si un factor favorece (desfavorece) la fosforilación de las enzimas *glucógeno fos-*

forilasa y glucógeno sintasa, dificulta (facilita) también su desfosforilación, a través del sistema del inhibidor, y el resultado final es que aumenta (disminuye) la glucogenólisis y baja (sube) la glucogenosíntesis.

La *glucógeno sintasa* muscular presenta la particularidad de que sus unidades pueden fosforilarse en varios lugares, con mayor o menor facilidad y especificidad, colaborando diversas quinasas, con lo que se consigue un buen ajuste de la actividad enzimática, desde la gran actividad de las formas desfosforiladas a la nula de las totalmente fosforiladas. Entre las quinasas actuantes, la principal es la propia *glucógeno fosforilasa quinasa*, pero también puede actuar directamente la *proteína quinasa A*, así como la *proteína quinasa C* y la *proteína quinasa CaM* y otras quinasas. Como ya se ha indicado, la desfosforilación de la *glucógeno sintasa* se controla eficazmente mediante la enzima *proteína fosfatasa 1* y el sistema inhibitorio de ésta.

La insulina también regula el proceso, con mecanismos parecidos, aunque más complejos, y los efectos finales son semejantes a los que se producirían con una activación de la *fosfodiesterasa*, con desaparición del AMPc, o con los de la activación de la *proteína fosfatasa*, favoreciendo desfosforilaciones que incrementan de la glucogenosíntesis y dificultan la glucogenólisis.

Los controles del metabolismo del glucógeno son tan precisos que no es de extrañar que las deficiencias enzimáticas de origen genético provoquen graves enfermedades. Las que afectan al almacenamiento del glucógeno se denominan glucogenosis habiéndose descubierto la primera por Edvard von Gierke en 1929. Un resumen de las principales se expone en la Tabla 14-4.

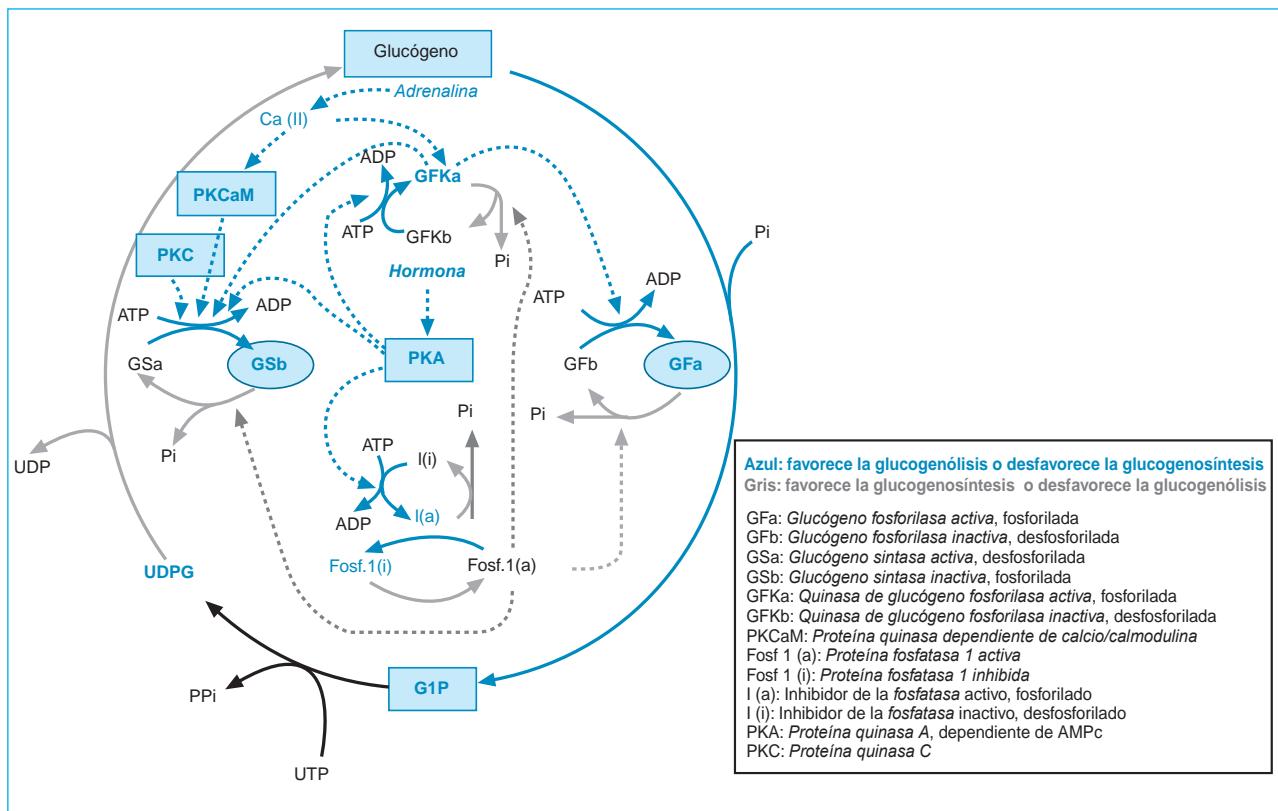


Figura 14-18. Regulación integrada del metabolismo del glucógeno.

Tabla 14-4. Enfermedades de almacenamiento del glucógeno: glucogenosis

Denominación (Enfermedad: E)	Enzima afectada Tipo de herencia	Glucógeno	Órgano afectado	Aspectos clínicos
Tipo I E. de von Gierke	Glucosa-6-fosfatasa Autosómica recesiva (A.r.)	Incrementado Estructura normal	Hígado Riñón	Hígado voluminoso Hipoglucemias Problemas de desarrollo
Tipo II E. de Pompe	α -1,4-glicosidasa (lisosomal) A.r.	Incrementado Estructura normal	Todos	Muerte temprana por parada cardiorrespiratoria
Tipo III E. de Cori	Enzima desramificante A.r.	Incrementado Ramificaciones cortas	Hígado Músculo	Como en el tipo I, pero menos acentuados
Tipo IV E. de Andersen	Enzima ramificante A.r.	Cantidad normal Ramificaciones largas	Hígado Bazo	Muerte muy temprana por cirrosis hepática
Tipo V E. de McArdle	Glucógeno fosforilasa A.r.	Algo incrementado Estructura normal	Músculo	Limitación energética para el ejercicio
Tipo VI E. de Hers	Glucógeno fosforilasa A.r.	Incrementado	Hígado	Como en el tipo III
Tipo VII	Fosfofructoquinasa A.r.	Incrementado Estructura normal	Músculo	Como en el tipo V
Tipo VIII	Fosfofructoquinasa Ligada al sexo	Incrementado Estructura normal	Hígado	Hipoglucemias

RESUMEN

- Los hidratos de carbono constituyen la principal fuente de energía para el ser humano y las vías metabólicas en las que son protagonistas esenciales son muy variadas: glicólisis anaerobia, glicólisis aerobia, ruta de las pentosas fosforiladas, ruta del ácido glucurónico, gluconeogénesis, glucogenolisis, glucogenosíntesis y, específicamente, en los seres fotosintéticos, el ciclo de Calvin.
- Diez (once) enzimas citoplasmáticas catalizan las etapas de la glicólisis anaerobia desde glucosa hasta piruvato (lactato). Tres de ellas, catalizadas por quinasas, son tan exergónicas que son prácticamente irreversibles; *hexoquinasa, fosfofructoquinasa y piruvato quinasa*.
- El rendimiento global de la glicólisis anaerobia hasta lactato (piruvato) es de dos moles de ATP por mol de glucosa (y dos moles de NADH).
- Otros monosacáridos, como fructosa y galactosa, pueden integrarse en la vía glicolítica, con enzimas específicas, conservando el mismo rendimiento energético.
- La fase aerobia de la glicólisis, previamente, necesita del paso desde piruvato a acetilCoA. Ello tiene lugar intramitocondrialmente con el concurso de un importante complejo enzimático: el de la *piruvato deshidrogenasa* que, además de la descarboxilación del piruvato y su conjugación con la coenzima A, da lugar a la obtención de un NADH, tras una serie de transformaciones, en la que los intermedios se mantienen unidos covalentemente a las tres enzimas que conforman el complejo.
- El rendimiento energético del catabolismo total de la glucosa es de 30-32 ATP, según se considere el rendimiento energético de los NADH citoplasmáticos. Por tanto, más del 90% de ese rendimiento se origina en la fase aerobia.
- Los destinos metabólicos del piruvato pueden ser muy variados. Diversas levaduras, bacterias y hongos se han especializado en la acumulación del producto de alguna de esas posibilidades, en procesos que reciben el nombre de fermentaciones.
- La ruta de las pentosas fosforiladas es una importante alternativa catabólica total de los monosacáridos, fundamental en situaciones anaerobias o en condiciones fisiológicas específicas. Toda ella transcurre citoplasmáticamente y se posibilita un amplio repertorio de interconversiones entre triosas, tetrosas, pentosas y hexosas, todas ellas, fosforiladas. Entre ellas, figura la ribosa-5-fosfato, componente esencial de los nucleótidos, siendo la ruta de las pentosas fosforiladas el único camino existente para su formación.
- El papel funcional de la ruta o ciclo del glucuronato es discutible, pero un hecho destacable es la formación de UDP-glucuronato que, mediante las correspondientes *glucuronyl transferasas*, permite la formación de glucurónidos de multitud de metabolitos catabólicos, solubilizándolos para permitir su eliminación por la orina.
- Para el mantenimiento de la glucemia es imprescindible la participación de la gluconeogénesis. Partiendo de lactato, piruvato (o de cualquier metabolito transformable en ellos), dos enzimas (*piruvato carboxilasa* y *fosfoenolpiruvato carboxiquinasa*) permiten vencer la barrera energética del paso desde piruvato a fosfoenolpiruvato y otras dos enzimas fosfatases (*1,6-fructosa-bisfosfatasa* y *glucosa-6-fosfatasa*), las respectivas barreras energéticas de las etapas antes mencionadas, catalizadas por quinasas. Globalmente, desde dos lactatos (dos piruvatos) se necesita el consumo de los enlaces ricos en energía de seis ATP (seis ATP y la oxidación de dos NADH).
- El ciclo de Cori combina procesos glicolíticos anaerobios en las células musculares, que exportan lactato, con procesos glicolíticos aerobios y la gluconeogénesis desde lactato, en el hígado, que exporta glucosa al músculo. Todo ello posibilita una alta velocidad glicolítica anaerobia muscular y un rendimiento energético global apreciable de unos 12 ATP por glucosa consumida.
- La regulación de la glicólisis y la gluconeogénesis es muy precisa y participan procesos muy variados: isoenzimas con propiedades cinéticas diferentes; efectores alostéricos muy diversos, entre ellos, retroinhibidores y señales energéticas; hormonas como insulina, glucagón y glucocorticoides que pueden regular, según sea el caso, la cantidad de ciertas enzimas (mecanismos de inducción y represión genéticas) y su calidad (fosforilación/desfosforilación de las enzimas, concentraciones de efectores críticos, etc.)
- En los organismos fotosintéticos, partiendo de ribulosa-1,5-bisfosfato, la enzima *rubisco* capta dióxido de carbono y se convierte en dos moléculas de 3-fosglicerato. Mediante el ciclo de Calvin, parte del 3-fosglicerato reconvierte nuevamente en la pentosa y completa el ciclo, mientras que otra parte se utiliza para la obtención de la hexosa fructosa-1,6-bisfosfato.
- Los papeles metabólicos del glucógeno muscular y del hepático tienen sus características particulares. Aunque la enzimología de su degradación (glucogenolisis) y su formación (glucogenosíntesis) sea la misma, la regulación responde a esas características distintivas (energética, en el muscular y regulador glucémico, en el hepático) aunque los procesos globales sean similares. En cuanto a las hormonas, a través de las cascadas de fosforilaciones/desfosforilaciones se consigue que una misma señal inicial pueda actuar en múltiples lugares de ambos procesos catabólico y anabólico para, sinérgicamente, conseguir el resultado más eficaz.
- Las enfermedades genéticas de almacenado de glucógeno suelen ser graves y se llaman glucogenosis. Según el gen afectado y su localización, las consecuencias clínicas pueden ser muy diferentes. El estudio de las glucogenosis es un buen ejemplo de interacción cooperativa positiva entre los abordajes clínicos y básicos de un problema.

EVALUACIÓN

1. (B). Los siguientes procesos metabólicos pueden tener lugar en el hepatocito:
- Ruta de las pentosas fosforiladas.
 - Glucogenosíntesis.
 - Formación de glucurónidos.
 - Gluconeogénesis.
- a b c d e
2. (A). En las células eucarióticas la glicólisis anaerobia tiene lugar en:
- El núcleo.
 - La membrana externa mitocondrial.
 - El citoplasma.
 - Intramitocondriamente.
 - Los lisosomas.
3. (B). Catabolismo de la fructosa.
- La fructosuria esencial ocasiona la acumulación de fructosa-1-fosfato.
 - Se inicia en el hígado mediante su conversión hasta fructosa-6-fosfato.
 - En el músculo comienza transformándose en galactosa-6-fosfato.
 - La fructosa directamente se fosforila mediante una quinasa hasta fructosa-1,6-bisfosfato.
- a b c d e
4. (A). A un alumno se le suministra un extracto muscular dializado contra el amortiguador fosfato, al que se añade una disolución con glucosa y ATP-Mg⁺². Para obtener galactosa-1-fosfato habría que añadir:
- Nada.
 - UTP.
 - UDP.
 - Pi.
 - Las tres sustancias anteriores.
5. (B). *Piruvato deshidrogenasa* en mamíferos:
- Es un complejo multienzimático.
 - En su actuación participan tres actividades enzimáticas diferentes y hasta cinco grupos prostéticos o coenzimas.
 - La reacción global que cataliza es piruvato + HSCoA + NAD⁺ → acetilCoA + CO₂ + NADH + H⁺.
 - La transformación global que cataliza es bastante reversible.
- a b c d e
6. (A). De los siguientes metabolitos se puede considerar como común para la glicólisis y la ruta de las pentosas fosforiladas:
- Dihidroxiacetona fosfato.
 - Ribulosa-5-fosfato.
 - Fosfoenolpiruvato.
 - 6-fosfogluconato.
 - Xilulosa-5-fosfato.
7. (C). La ruta de las pentosas fosforiladas es exergónica PORQUE por cada glucosa oxidada, los 12 NADPH producidos inmediatamente se usan para la obtención metabólica de 36 ATP.
- a b c d e
8. (B). Son metabolitos con capacidad gluconeogénica:
- Fructosa-6-fosfato.
 - Citrato.
 - Lactato.
 - Butirato.
- a b c d e
9. (A). La gluconeogénesis:
- A partir de piruvato tendería a acoplarse al funcionamiento de la *malato deshidrogenasa* mitocondrial y citoplasmática.
 - A partir de lactato favorecería el uso de los sistemas *aminotransferasa* mitocondrial y citoplasmático para lograr la salida mitocondrial del malato, que procede del lactato, vía piruvato y oxalacetato.
 - A partir de dos lactatos necesita la energía de la hidrólisis de 6 ATP.
 - En el músculo blanco no llega directamente hasta glucosa al carecer la célula muscular de glucosa-6-fosfatasa.
 - Todo lo anterior es cierto.
10. (A). *Fosfofructoquinasa-1* (PFK-1), *fructosa-1,6-bisfosfata* (1,6-FBPasa) y su regulación a través de efectores:
- La PFK-1 es inhibida alostéricamente por AMP.
 - La PFK-1 es activada alostéricamente por protones.
 - La 1,6-FBPasa es activada por citrato.
 - El ATP activa a PFK-1.
 - La 1,6-FBPasa se activa por AMP.
11. (C). La insulina, el glucagón y los glucocorticoides son hormonas reguladoras de la gluconeogénesis PORQUE todas ellas inducen la síntesis de las enzimas gluconeogénicas *piruvato carboxilasa* y *fosfoenolpiruvato carboxiquinasa*.
- a b c d e

EVALUACIÓN (continuación)

12. (A). En el hígado, la glucosa puede convertirse en glucógeno. Para ello sería necesaria la participación de:
- Fosforilasa.*
 - UTP.
 - P_i.
 - Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa.*
 - Nada de lo anterior.
13. (A). Principales moduladores del metabolismo del glucógeno:
- AMP en el músculo.
- b. Glucosa-6-fosfato en el hígado.
c. Glucosa en el músculo.
d. ATP en el hígado.
e. Fructosa-1,6-bisfosfato en el hígado.
14. (C). La hiperglucemia hace disminuir la producción de glucagón en las células pancreáticas, con lo que se favorece la conversión de la *fosforilasa a* en *fosforilasa b* en el hígado, PORQUE el glucagón actúa como un inhibidor alostérico de la *fosforilasa a*.
- a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Croniger CM, Chakravarty K, Olswang Y *et al*: Phosphoenolpyruvate Carboxykinase Revisited: II. Control of Pepck-C Gene Expression. *Biochem Mol Biol Educ* 2002; 30: 353-362.
- Croniger CM, Olswang Y, Reshef L *et al*: Phosphoenolpyruvate Carboxykinase Revisited: Insights into Its Metabolic Role. *Biochem Mol Biol Educ* 2002; 30: 14-20.
- Heinrich R, Meléndez-Hevia E, Montero F *et al*: The structural design of glycolysis: An evolutionary approach. *Biochem Soc Trans* 1999; 27: 294-298.
- Jope RS, Johnson GvW: The glamour and gloom of glycogen synthase kinase-3. *TiBS* 2004; 29: 95-102.
- Newsholm EA, Challiss RAJ, Crabtree B: Substrate cycles: their role in improving sensitivity in metabolic control. *TiBS* 1984; 9: 277-280.
- Patel MS, Korotchkina LG: The Biochemistry of the Pyruvate Dehydrogenase Complex. *Biochem Mol Biol Educ* 2003; 31: 5-15.
- Okar DA, Lange AJ, Manzano A *et al*: PFK-2/FBPase-2: maker and breaker of the essential biofactor fructose-2,6-bisphosphate. *TiBS* 2001; 26: 30-35.

METABOLISMO DE LOS LÍPIDOS Y LAS LIPOPROTEÍNAS

15.1 METABOLISMO DE LAS LIPOPROTEÍNAS

15.1.1 Estructura y clasificación de las lipoproteínas

Buena parte de los lípidos son insolubles en agua, lo que plantea un problema para su transporte por los líquidos biológicos, sangre y linfa. Para superarlo, se dispone de vehículos adecuados, una familia de proteínas plasmáticas denominadas lipoproteínas, de naturaleza globular, que se componen de lípidos y proteínas y están diseñadas para formar un núcleo hidrofóbico constituido por los materiales más insolubles (triacilgliceroles, ésteres de colesterol y vitaminas liposolubles), circundado por una periferia hidrofílica en la que predominan las proteínas (denominadas genéricamente apolipoproteínas) y los lípidos más polares (fosfolípidos y colesterol). Con ello se consigue que los lípidos más apolares no se relacionen con el entorno acuoso.

Existen varios tipos de lipoproteínas (Fig. 15-1), que se diferencian en tamaño, composición y densidad, siendo precisamente esta última propiedad la que ha servido de base para su clasificación (Tabla 15-1). En función de los lípidos mayoritarios de cada tipo, los quilomicrones (QM) y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) son transportadores de los triacilgliceroles (TAG), mientras que las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y las lipoproteínas de alta densidad (HDL), lo son de los ésteres de colesterol (EC).

Hay diferentes tipos de apolipoproteínas, nombradas con las letras del alfabeto (A, B, C, etc.), según el orden en que se

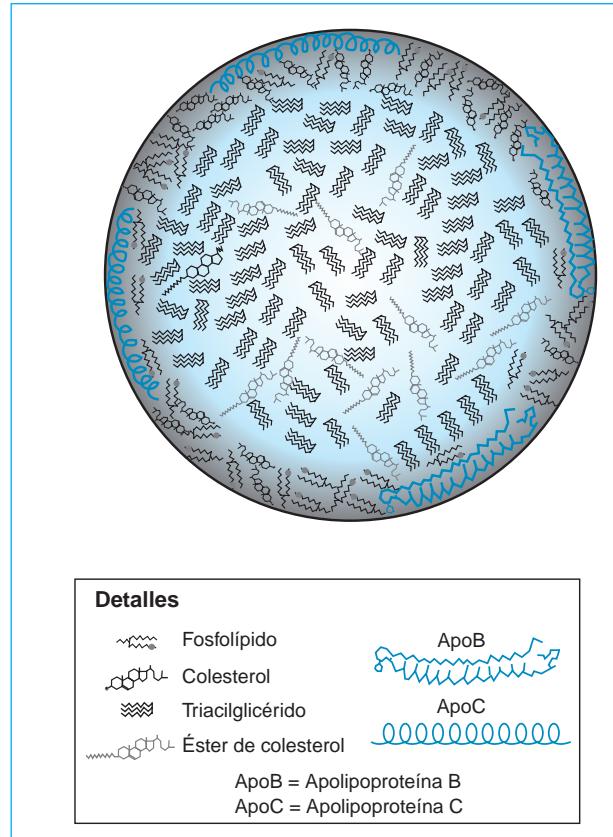


Figura 15-1. Estructura general de las lipoproteínas.

Tabla 15-1. Diferentes tipos de lipoproteínas circulantes por los líquidos biológicos

Lipoproteína	Densidad	Diámetro (Å)	Lípido principal (%)
Alta densidad (HDL)	> 1.06	50 - 150	Fosfolípidos
Baja densidad (LDL ₂)	1.06 - 1.019	200 - 300	Colesterol (50)
Baja densidad (LDL ₁ o IDL)	1.019 - 1.006	250	Ninguno predomina
Muy baja densidad (VLDL)	1.006 - 0.95	250 - 750	Triacilglicéridos
Quilomicrones (QM)	< 0.95	1000 - 10 000	Triacilglicéridos (95)

Tabla 15-2. Apolipoproteínas del plasma humano: propiedades y lipoproteínas que las contienen

<i>Tipo</i>	<i>Lipoproteínas en las que son más abundantes</i>	<i>Tamaño molecular: kDa</i>	<i>Función no estructural</i>	<i>Lugar de origen</i>
A-I	HDL	28	Activa la LCAT	Intestino, hígado
A-II	HDL	18		Hígado
B-48*	QM	250		Intestino
B-100*	VLDL, IDL, LDL	500	Reconocida por el receptor de LDL	Hígado
C-II	QM, VLDL, HDL	10	Activa la <i>lipoproteína lipasa</i>	Hígado
E2-4	QM, VLDL, HDL	34	Reconocida por el receptor de QMr	Hígado Macrófagos

* B-48 y B-100 son productos del mismo gen, pero el intestino produce B-48 (2400 aminoácidos) y el hígado, B-100 (4536), debido a la diferente maduración del ARNm.

Abreviaturas: QM, Quilomicrón; QMr, quilomicrón remanente, R, receptor; LCAT, *lecitina colesterol aciltransferasa*.

han ido caracterizando, con diferentes subgrupos (A-I, A-II..., A-IV, C-I, C-II..., B-48, B-100, etc.), en función de sus características inmunológicas, estructurales y funcionales. No todas las lipoproteínas contienen todos los tipos de apolipoproteínas posibles; las hay que están formadas por varios tipos diferentes mientras que otras, como las LDL, sólo por uno, las B-100. La Tabla 15-2 muestra las características fundamentales de las apolipoproteínas, indicando las lipoproteínas de las que forman parte.

15.1.2 Metabolismo de las lipoproteínas

El metabolismo de todos los tipos está estrechamente relacionado, existiendo un continuo intercambio de materia (lípidos y apolipoproteínas) entre las lipoproteínas circulantes.

Quilomicrones

Para que los lípidos absorbidos por el intestino procedentes de la digestión (véase el Cap. 11) lleguen a la corriente circulatoria, el enterocito forma quilomicrones (QM), que son las lipoproteínas de menor densidad y mayor tamaño. En el retículo endoplásmico enterocítico se reconstituyen las moléculas de triacilglicerol, a partir del material lipídico absorbido, constituyendo el núcleo de los QM, aunque también participan ésteres de colesterol fabricados a partir de ácidos grasos y colesterol de la dieta, así como otras moléculas, como las vitaminas liposolubles. Finalmente, se añaden las apolipoproteínas, inicialmente, A-I y B-48. Estos QM inmaduros abandonan la célula por exocitosis y llegan a la zona capilar que circunda la membrana basal del enterocito.

Debido a su gran tamaño (precisamente, su nombre se debe a que tienen un diámetro medio de una micra y proceden del quilo intestinal), los capilares sanguíneos no pueden captarlos, pero sí los linfáticos. Ello hace que, a diferencia de los demás componentes de la dieta, que llegan al hígado a través de la porta, el grueso del contenido lipídico no lo haga por esa vía. El contenido de la linfa se vierte, a la altura del conducto torácico, en las grandes venas, que son las que llevan los QM a tejidos periféricos consumidores de grasa, como el adiposo o el muscular. Una vez en la sangre, el QM madura como consecuencia del continuo intercambio de apolipoproteínas y lípidos con las HDL, así como con los tejidos por los que pasa. A esta maduración contribuye la captación de la apolipoproteína C-II, fundamental para su metabolismo, porque activa la *lipoproteína lipasa*, enzima presente en los capilares de los tejidos periféricos consumidores de ácidos grasos. Al actuar dicha enzima, el QM descarga parte de sus triacilgliceroles que fluyen hacia los tejidos circundantes, como ácidos grasos y glicerina. Los QM resultantes, empobrecidos en triacilgliceroles, pero simultáneamente enriquecidos en ésteres de colesterol procedentes de las HDL, van transformándose paulatinamente en unas partículas terminales denominadas QM «remanentes» (QMr), de menor tamaño y mayor densidad, que acaban su periplo siendo captados por receptores ubicados en la membrana plasmática de los hepatocitos y, unidos a dichos receptores, penetran en la célula por endocitosis (Fig. 15-2).

Así pues, procedentes de la fracción lipídica de la dieta, llegan al hígado, vía porta, las pocas moléculas de glicerina de los TAG que se han degradado totalmente en la digestión

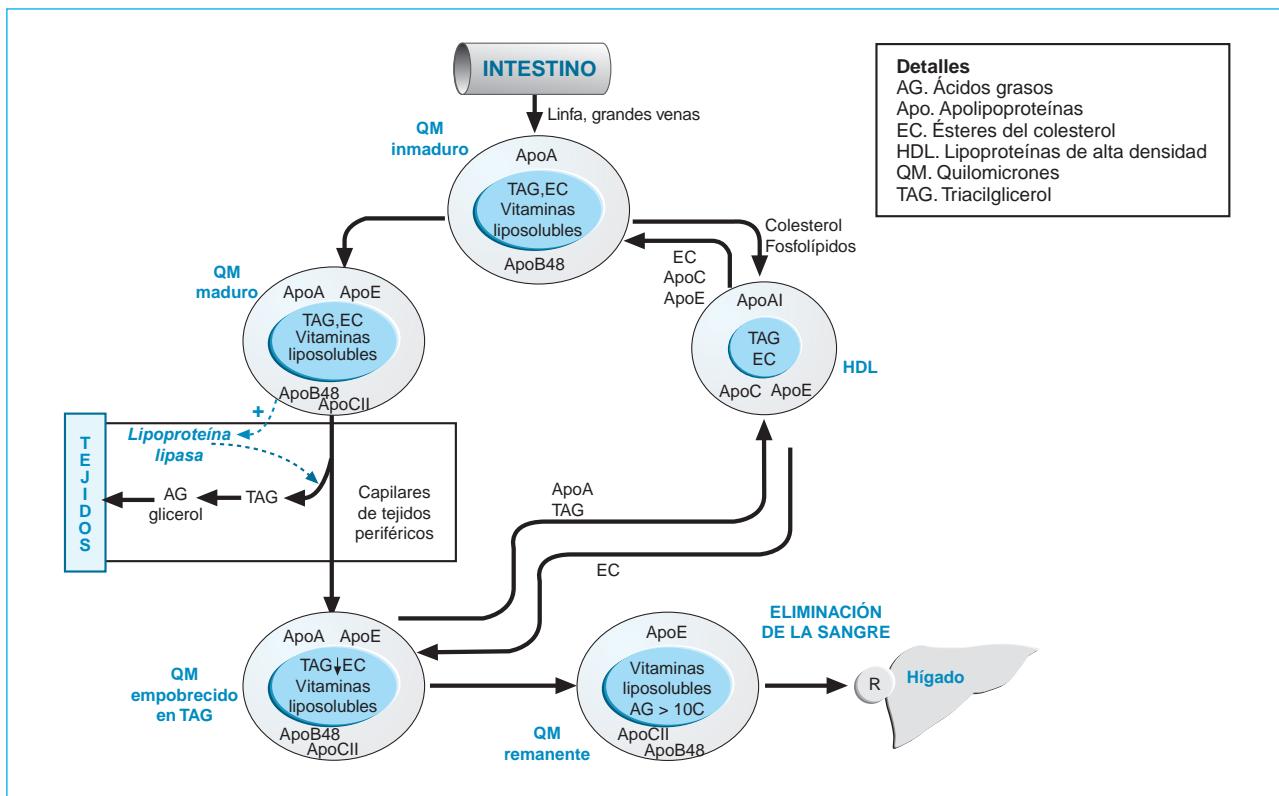


Figura 15-2. Metabolismo de los quilomicrones.

y los ácidos grasos de cadena corta (menos de 10 átomos de carbono), cuya naturaleza más polar les evita tener que formar parte de los QM. Finalmente, arriban también los ácidos grasos que contienen los QMr que acaban su ciclo ahí, en su mayor parte en forma de ésteres de colesterol, aunque no todos ellos proceden de la dieta.

VLDL, IDL y LDL

El hígado es un proveedor de ácidos grasos para los tejidos periféricos y los suministra entre comidas. Para hacerlo, construye unas lipoproteínas, las VLDL, muy semejantes en composición al QM, aunque de menor tamaño y mayor densidad. La forma inmadura, con una única apolipoproteína (B-100), sale del hepatocito por exocitosis e, inmediatamente, intercambia materiales, de forma similar al QM, con las células del entorno y con las HDL. En este proceso, capta apoC-II y ésteres de colesterol, dando lugar a la VLDL «madura», lista para descargar sus TAG a su paso por los capilares de los tejidos periféricos, donde está la *lipoproteína lipasa*, de forma similar a como lo hacen los QM. Igual que ellos, a medida que pasa por los capilares de esos tejidos captadores de grasas, la VLDL se empobrece en triacilglicérols, hasta llegar a convertirse en otra lipoproteína de densi-

dad intermedia, la IDL (parecida a los QMr), de la que un 50%, aproximadamente, es captado casi inmediatamente por receptores hepáticos.

El otro 50% continúa circulando e intercambiando material con las HDL, a las que cede los TAG restantes y todas las apoproteínas que contiene, excepto las B-100, y de la que recibe ésteres de colesterol. El resultado es un tercer tipo de lipoproteína, la LDL, que contiene apoB-100 como única apolipoproteína y ésteres de colesterol como componente lipídico mayoritario. Finalmente, las LDL son captadas por receptores específicos para ellas (R-LDL), ubicados en la membrana plasmática de células pertenecientes a las glándulas endocrinas, el intestino y el propio hígado, para penetrar y ser degradadas en su interior. La Figura 15-3 resume el proceso.

Metabolismo de las HDL. El transporte inverso del colesterol

Las HDL, de las que se han aislado más de seis subclases diferentes, intercambian materiales, lípidos y apolipoproteínas con los otros tipos de lipoproteínas, participando activamente en su maduración. Su metabolismo es el más complejo y menos conocido. Se originan, tanto en el hígado, como

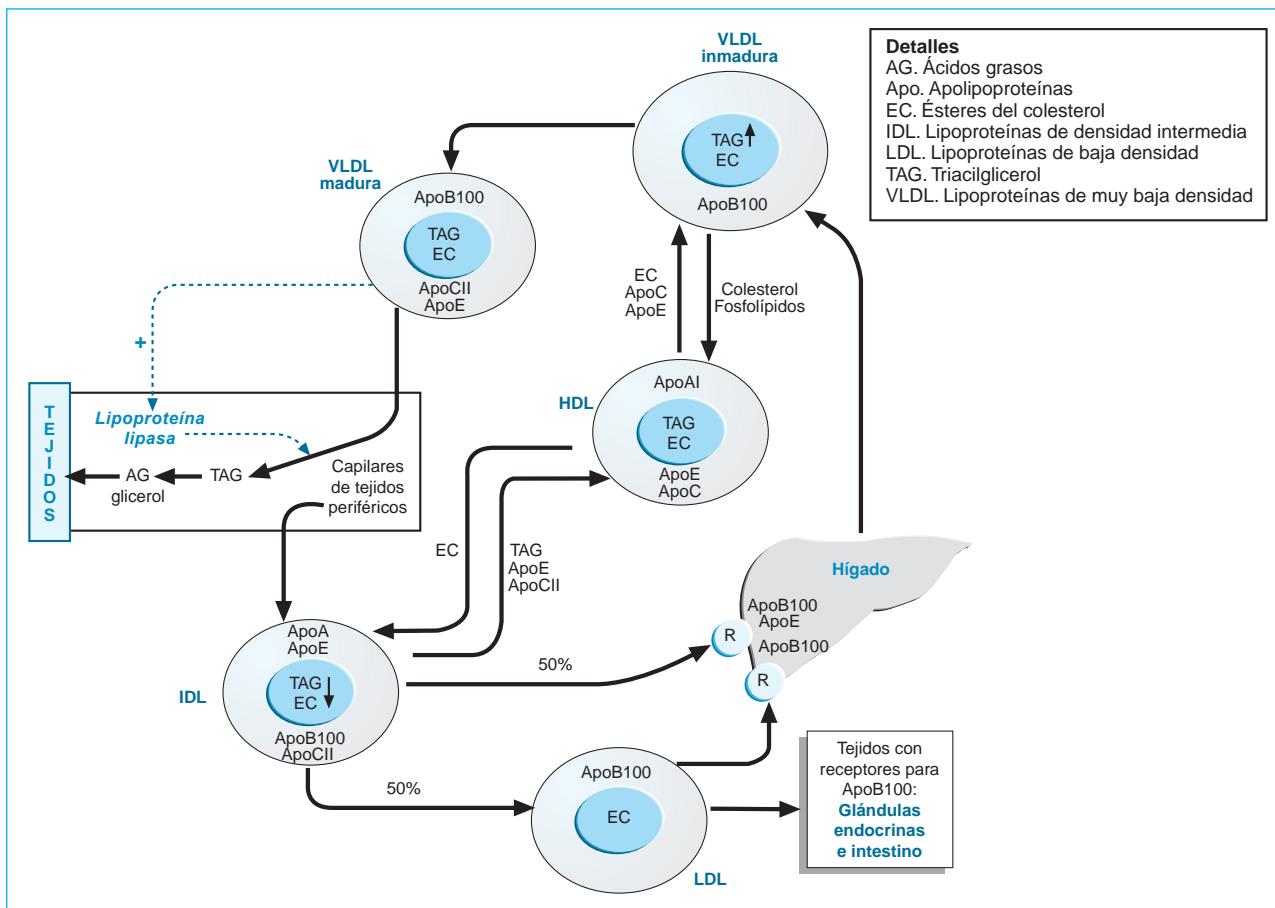


Figura 15-3. Metabolismo de VLDL, IDL y LDL.

en el intestino, como HDL «nacientes», conteniendo sólo apolipoproteínas (fundamentalmente, A-I, C y E) y fosfolípidos. Tras su salida a la sangre, acumulan colesterol procedente de las membranas celulares de los tejidos por los que pasan, así como de QM y VLDL inmaduras, de las que también reciben fosfolípidos, transformando ambos aportes en ésteres de colesterol, gracias a que su apoA-I (apolipoproteína A-I) fija y activa la enzima plasmática *lecitina colesterol aciltransferasa* (*LCAT*), que cataliza la reacción:



De este modo, se acumulan en su núcleo los ésteres de colesterol, que inmediatamente son cedidos, junto con apoE y C, a los otros tipos de lipoproteínas, de las que reciben triacilgliceroles y, en sus fases terminales, también apolipoproteínas. En las Figuras 15-2 y 15-3 se esquematizan estos procesos. Hay que añadir que, diariamente, una cierta fracción de las HDL es captada por receptores hepáticos y entra en este tejido, donde es catabolizada.

Globalmente, el metabolismo de las HDL consigue la recuperación del exceso de colesterol depositado en las membranas celulares de los tejidos periféricos. Las HDL lo convierten en ésteres de colesterol y lo remiten a las formas maduras y terminales de los otros tipos de lipoproteínas (QM, IDL y LDL), muchas de las cuales, al acabar en el hígado, lo depositan en este órgano. Por tanto, las HDL son fundamentales para efectuar el transporte inverso del colesterol, o ruta de excreción para este compuesto que, al circular siempre unido a proteínas plasmáticas, no puede ser expulsado por la orina (Fig. 15-4). En el hígado, el colesterol es vertido a la bilis, que viaja hasta el intestino cada vez que hay una comida que digerir; como sólo se absorbe un 40%, aproximadamente, del colesterol presente en el lumen intestinal (véase el Cap. 11), el otro 60% acaba en las heces.

Las variaciones en los niveles de las lipoproteínas circulantes pueden causar enfermedades. En general, los niveles altos de LDL —vulgarmente llamado «colesterol malo»— son potencialmente peligrosos (véase el apartado del metabolismo del colesterol y sus derivados), mientras que, por el

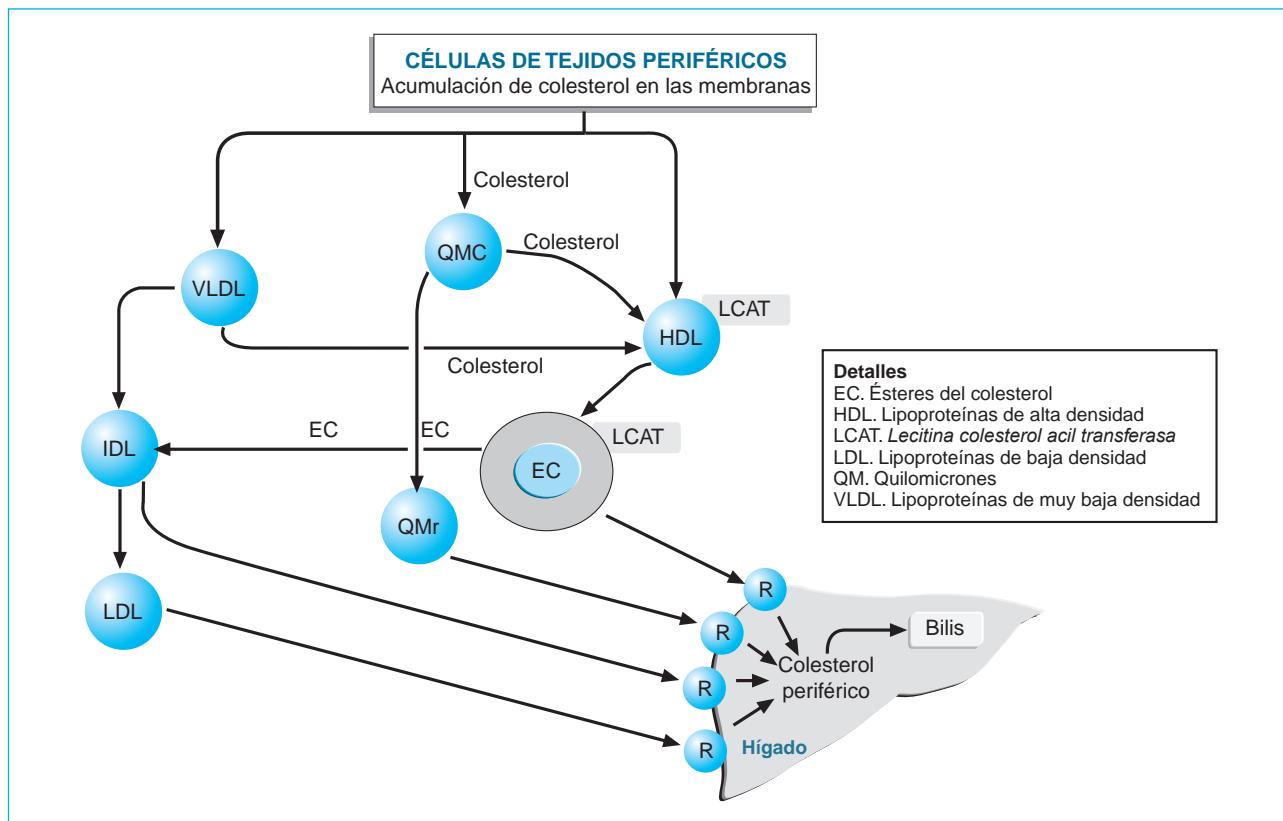


Figura 15-4. Transporte inverso del colesterol.

contrario, los niveles altos de HDL —«colesterol bueno»— son beneficiosos. Las personas con bajas concentraciones séricas de LDL y altas de HDL suelen mostrar una baja incidencia de alteraciones cardiocirculatorias (infarto, angina de pecho, derrame cerebral), mientras que la situación contraria es muy propensa a dichas enfermedades.

Un caso especial: la Lp (a)

La enfermedad coronaria es una de las principales causas de mortalidad en Occidente: en la mayoría de los casos es debida a otra causa primaria, la aterosclerosis, producida por la acumulación de depósitos grasos o ateromas, fundamentalmente de LDL, en las paredes de los vasos sanguíneos. El crecimiento de éstos puede llegar a obstruir el lumen de los vasos y, eventualmente, desencadenar un ataque del sistema inmunitario contra sus paredes que puede culminar con la aparición de lesiones en dichos vasos, originando infartos o derrames cerebrales. Por ello, una buena manera de prevenir estas afecciones consiste en mantener controlados, por debajo de determinados umbrales, los niveles de LDL, mientras que es bueno que aumenten los de HDL. Hay todo tipo de tratamientos, desde simplemente dietéticos hasta farmacoló-

gicos, pasando por la realización de ejercicios controlados, que consiguen estos objetivos y bajan considerablemente el riesgo de padecer este tipo de lesiones.

Sin embargo, se conocen casos de personas que, a pesar de mantener controlados los niveles de LDL y HDL, sufren estos incidentes cardiocirculatorios, lo que indica que hay otros motivos de riesgo que se están investigando. Hace casi medio siglo se descubrió una nueva partícula sanguínea que ha resultado muy influyente en este terreno, la denominada Lipoproteína (a), que abreviaremos, como Lp (a), que abunda en la sangre de personas cuya vulnerabilidad a la enfermedad coronaria no tenía explicación. Desde su descubrimiento, se ha podido establecer que la concentración de Lp (a) en sangre es muy variable —llega a haber variaciones de concentración de unas mil veces, de unos individuos a otros—, que su grado de presencia en la sangre es hereditario y que, a diferencia de lo que ocurre con las otras formas de Lp transportadoras de colesterol, LDL y HDL, cuya concentración varía en respuesta a cambios en la dieta o a diferentes tratamientos, la de Lp (a) permanece estable e invariable durante toda la vida, lo cual es un problema grave dado que se ha establecido que la incidencia de

ataques cardíacos en individuos con alto nivel de Lp (a) es mucho mayor que en la población control.

¿Cuál es la causa de esta perjudicial propiedad de Lp (a)? En la Figura 15-5 puede verse su estructura, semejante a la de LDL; como aquélla, básicamente es una envoltura de ApoB100 y un núcleo rico en ésteres de colesterol, pero la diferencia estriba en que, en el envoltorio, aparece otra apolipoproteína específica, la apoLp (a), que es la que le confiere sus especiales propiedades. La apoLp (a) tiene una estructura muy característica; los trabajos de R. W. Lawn, que clonó el gen que la codificaba, determinaron que su secuencia aminoacídica tenía una notable homología con una proteína muy importante de la sangre, el plasminógeno, zimógeno precursor de la proteasa *plasmina*, responsable de la ruptura de las moléculas de la fibrina, el principal componente proteínico de los coágulos sanguíneos.

Es precisamente esta semejanza la que se cree que determina el peligro de la Lp (a): cuando, una vez cumplida su misión, se impone la degradación de un coágulo sanguíneo, éste enlaza moléculas de plasminógeno, que, a su vez, atrae a las proteasas sanguíneas que lo activan y, en poco tiempo, la recién creada *plasmina* hace desaparecer el coágulo. Sin embargo, en personas que poseen elevados niveles de Lp (a), debido a la presencia de la apoLp (a) en su superficie, y la homología de ésta con el plasminógeno, se produce un error molecular que hace que sea la Lp (a), y no el plasminógeno, la que se une al coágulo. Como la apoLp (a) no puede activarse a *plasmina* y, por consiguiente, no puede degradar el coágulo al que se encuentra unida,

aumenta la vida media de dicho coágulo. Si este proceso se repite, se puede desencadenar un incidente arterioesclerótico que, a su vez, puede culminar en la enfermedad cardiovascular.

La incógnita es cuál pueda ser el papel fisiológico normal de la Lp (a). Se ha apuntado que interviene en la cicatrización de las lesiones que pueden surgir en los vasos sanguíneos: cuando se lesioná un vaso, la formación de coágulos de fibrina detiene, temporalmente, la salida de la sangre, pero la cicatrización definitiva depende del crecimiento de nuevas células. Éstas precisan de colesterol para sus membranas. Como sabemos, la Lp (a) contiene colesterol pero, además, debido a su específica dotación de apoLp (a), tiene la capacidad, al ser ésta tan semejante al plasminógeno, de ligarse a la fibrina del coágulo. Por ello, la Lp (a) vendría a ser como un proyectil inteligente que va dirigido exactamente al lugar preciso en el momento adecuado. El problema surge cuando, genéticamente, alguien tiene más Lp (a) de la necesaria.

15.2 OXIDACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS

15.2.1 Movilización de los depósitos grasos

Los ácidos grasos son uno de los combustibles más empleados; por tanto, fuente fundamental de obtención de energía para muchos tejidos. Esterificados con glicerina, forman triacilgliceroles o grasas, de los que suele haber depósitos en todas las células, aunque son mucho más abundantes en el tejido adiposo, cuya principal función consiste, precisamente, en servirles de almacén (un hombre de 70 kg tiene unos 11 kg de grasa, lo que supone el almacenamiento de unas 100 000 kcal como TAG).

Cuando se produce un déficit calórico (caso del ayuno), se movilizan esos depósitos de triacilgliceroles, fenómeno que, junto a su contrario, el depósito de grasas, está controlado por la acción de diferentes hormonas. Si predominan en la sangre las hormonas lipolíticas (ACTH, glucagón, adrenalina, hormona del crecimiento, entre otros), el equilibrio se desplaza hacia la movilización; si, por el contrario, predominan las hormonas lipógenas (la principal es la insulina), ocurre lo contrario.

Para la movilización, las hormonas lipolíticas se unen a sus receptores y desencadenan una hidrólisis masiva de los triacilgliceroles del tejido diana. El proceso es un típico caso de activación en cascada (véase el Cap. 12): la unión hormona-receptor, en la membrana, provoca la activación de la *adenilato ciclase*, lo que, a su vez, produce grandes cantidades de AMPc, y es el crecimiento de nivel de este segundo mensajero el que activa las *proteína quinasas dependientes de AMPc*. Una de éstas tiene como sustrato la enzima reguladora

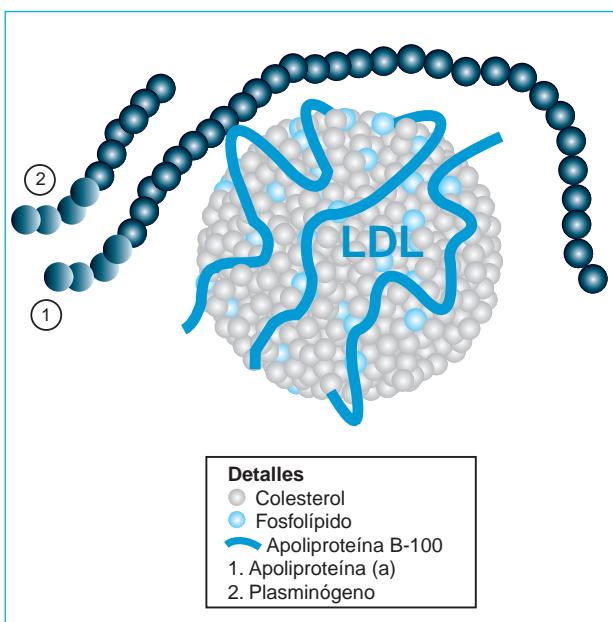


Figura 15-5. Estructura general de la lipoproteína (a).

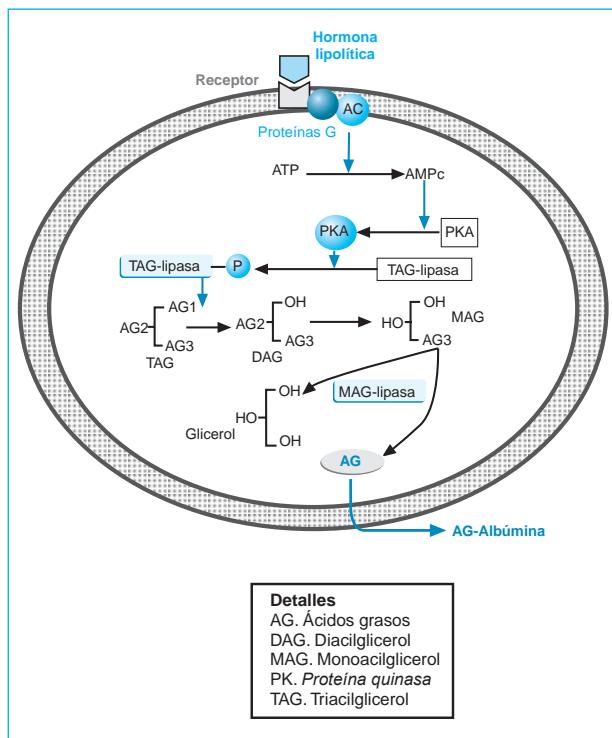


Figura 15-6. Movilización de los ácidos grasos del adipocito por la acción de las hormonas lipolíticas.

ra de la hidrólisis de los triacilgliceroles, *triacylglycerol lipasa*, cuya actuación inicia la lipólisis (Fig. 15-6). La enzima así activada convierte, en dos pasos, el triacilglicerol en monoacilglicerol, y una *monoacilglicerol lipasa* completa la hidrólisis total hasta ácido graso y glicerina.

Cuando la deficiencia energética desaparece, dejan de producirse las hormonas lipolíticas, el páncreas libera insulina y la situación cambia: hay un predominio de esta última hormona, deja de generarse AMPc y se hidroliza el preexistente. No se fosforilan nuevas moléculas de *triacylglycerol lipasa*, desfosforilándose las ya fosforiladas por la acción de la *triacylglycerol lipasa fosfatasa*, enzima cuyo nivel celular —por tanto, su actividad— no varía. De este modo, se detiene la movilización de los depósitos grasos, y el equilibrio se desplaza hacia la deposición de los mismos.

Los ácidos grasos liberados en la movilización, la mayor parte de cadena larga (16-18 átomos de carbono; insolubles, por tanto), se unen a la albúmina, que los transporta hasta los tejidos para su uso como combustible.

15.2.2 Degradación de los ácidos grasos: la β -oxidación

La Figura 15-7 muestra un esquema catabólico general de los ácidos grasos. La ruta fundamental de degradación de los

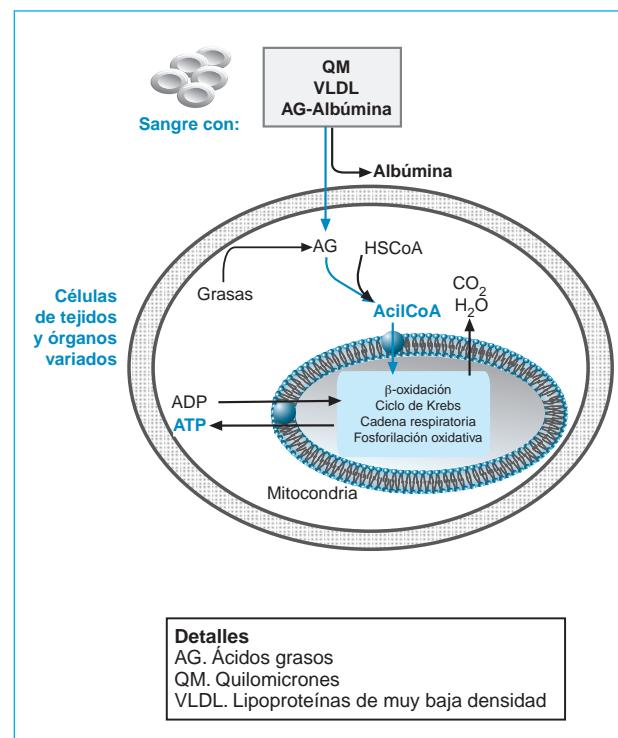


Figura 15-7. Ácidos grasos como fuente de energía intracelular.

ácidos grasos es la denominada β -oxidación mitocondrial, la central, aunque, como veremos, existe otra β -oxidación complementaria, aunque defectiva, en los peroxisomas.

Para que un ácido graso se oxide, ha de llegar a la mitocondria convertido en la forma molecular que reconocen las enzimas correspondientes. Esa forma es la obtenida al esterificar su grupo carboxilo con una molécula de Coenzima A, que dispone de un grupo tiol, o sea, en forma de acilCoA. Como quiera que ese enlace tioéster tiene una alta energía de hidrólisis (lo que se representa mediante el símbolo ~), el proceso de activación implica un gasto (o mejor, una inversión) de energía. La reacción es catalizada por la *acilCoA sintetasa*:



Todas las células de los mamíferos disponen de un juego de isoenzimas de *acilCoA sintetasa*, fundamentalmente citoplasmáticas, aunque parece haberlas también en las mitocondrias, que aseguran que cualquier ácido graso pueda convertirse en acilCoA.

La acilCoA ha de entrar en la mitocondria, pero la membrana interna es impermeable a las acilCoA y no dispone de transportador para la CoA ni sus derivados acilados. Hay que

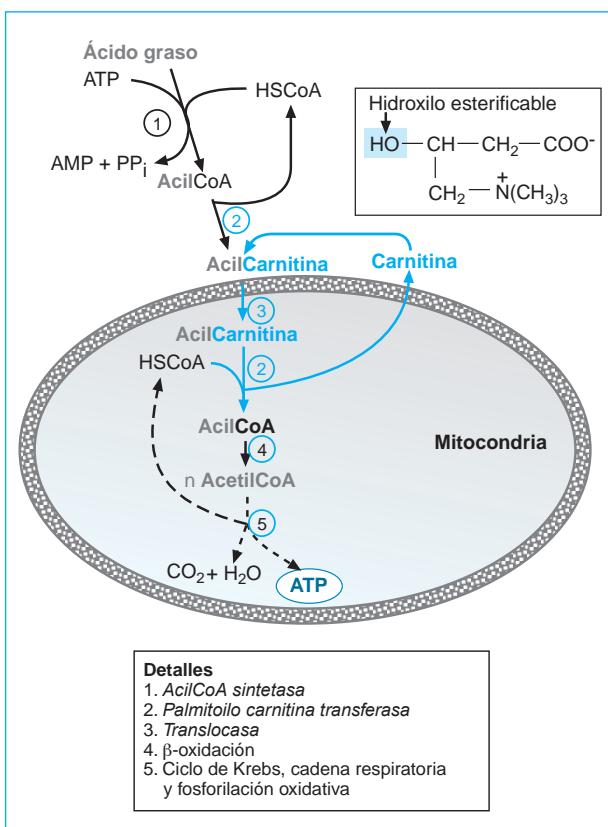


Figura 15-8. Estructura de la carnitina y su papel en la transferencia de los ácidos grasos.

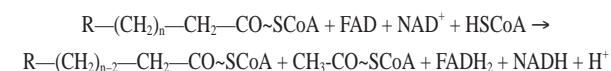
recurrir a un sistema de lanzadera (véase el Cap. 13) para conseguir que pasen, por el procedimiento de transferir su grupo acilo desde acilCoA hasta carnitina, una molécula presente en tejidos de mamífero que posee un hidroxilo esterificable por acilos, y para la que, tanto libre como esterificada, existe un transportador en la membrana interna mitocondrial. El sistema de lanzadera, pues, consta de dos isoenzimas, una citoplasmática y otra mitocondrial, de una enzima capaz de efectuar tal transferencia, *palmitoil carnitina transferasa*, y del citado transportador de carnitina. El funcionamiento de la misma se esquematiza en la Figura 15-8. Las isoenzimas, *palmitoil carnitina transferasa I*, citoplasmática, y *palmitoil carnitina transferasa II*, mitocondrial, catalizan la misma reacción, aunque funcionalmente operen en sentido contrario.

Una vez lograda la entrada de los acilos a la mitocondria, comienza su β -oxidación. Como es fácil deducir, la carencia de carnitina, o la disfunción de las transferasas, puede suponer un grave problema patológico, especialmente en el tejido muscular. Las personas carentes de carnitina tienen tendencia a sufrir la acumulación de triacilgliceroles en el músculo, lo

que acarrea problemas que van desde simples dolores musculares a posible colapso y muerte. En la medicina del deporte, a veces se emplean fármacos con carnitina para acelerar la degradación de los ácidos grasos en deportistas de élite, aunque la utilidad de esta práctica sea discutible. En otras ocasiones se ha propuesto el uso de carnitina en regímenes de adelgazamiento.

En la matriz mitocondrial, las acilCoA sufren la consecutiva y repetida acción de cuatro enzimas (con dos enzimas adicionales, si se trata de ácidos grasos insaturados), que efectúan el ataque oxidativo al carbono β del grupo acilo. Así se puede conseguir la escisión total de cualquier acilo en unidades bicarbonadas de acetilCoA, con la producción acoplada de coenzimas reducidas (Figura 15-9).

Las dos enzimas fundamentales del proceso son dos deshidrogenasas: la primera se ubica en la propia membrana interna mitocondrial y se puede acoplar directamente a la *cadena transportadora de electrones* (véase el Cap. 13), siendo FAD su grupo prostético; la otra, presente en la matriz mitocondrial, tiene como coenzima NAD⁺. Cuando las enzimas actúan, producen coenzimas reducidas (FADH₂ y NADH + H⁺, respectivamente), que pueden reoxidarse cediendo sus equivalentes de reducción. FADH₂ lo hace directamente al complejo II de la cadena transportadora de electrones, pues forma parte de él, mientras que NADH + H⁺, el sustrato de una enzima del complejo I, *NADH-ubiquinona oxidoreductasa*, lo hace a éste. Dichas reoxidaciones implican la fabricación neta de 4 moléculas de ATP (1.5 de FADH₂ y 2.5 de NADH + H⁺; véase el Cap. 13), incluso antes de que se haya desgajado la primera unidad de acetilCoA. La enzima 2 hace aparecer un doble enlace *trans* sobre los carbonos 2 y 3, originando un compuesto insaturado, ideal para sufrir reacciones de adición como la que cataliza la enzima 3, una *hidratasa*, que añade una molécula de agua, yendo el H⁺ a C2 y el OH⁻ a C3. Con ello se crea un nuevo carbono asimétrico, con la posibilidad de que aparezcan dos enantiómeros, pero la especificidad de la enzima es tal que si, como en este caso, el doble enlace es *trans*, produce el enantiómero L, mientras que si se enfrenta a un isómero *cis*, el enantiómero producido es el D. Al actuar la enzima 4, que sólo puede hacerlo sobre el enantiómero L, aparece un nuevo grupo carbonilo en β . Finalmente, la reacción catalizada por la *tiolasa* 5 origina la escisión de los dos primeros carbonos del ácido graso como acetilCoA y se crea otra acilCoA, de dos carbonos menos, que puede ser sustrato de la enzima 2, reiniciándose así todo el proceso. Tras una primera vuelta a esta ruta de la β -oxidación, puede escribirse el siguiente balance de materia:



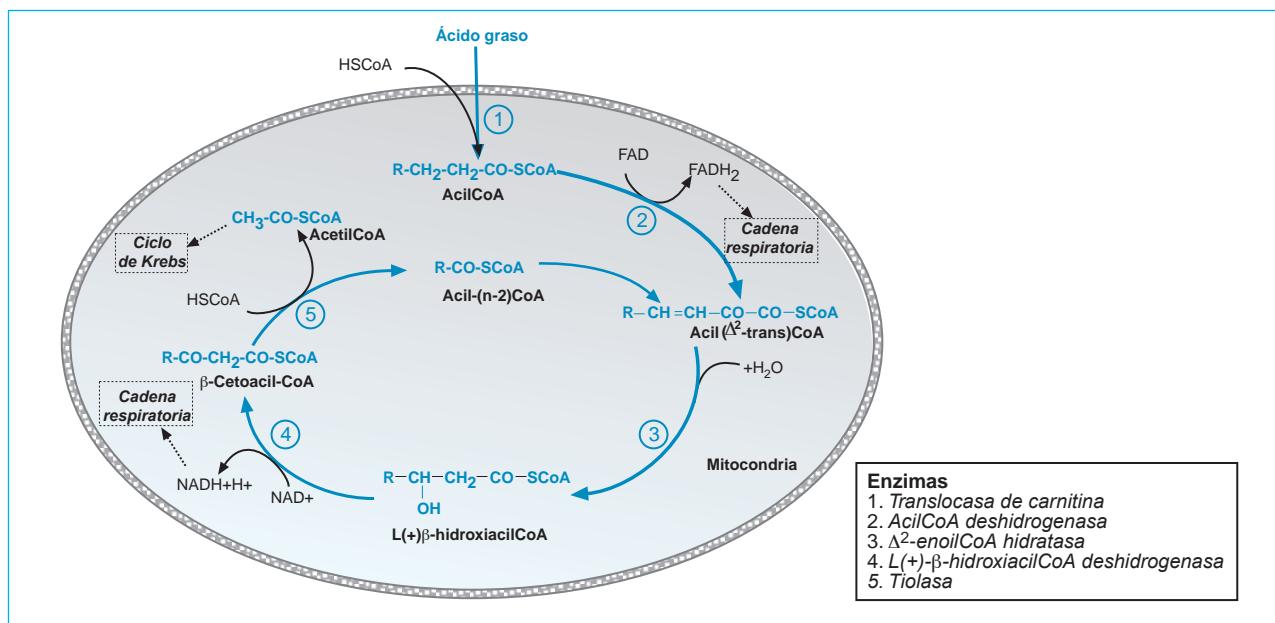
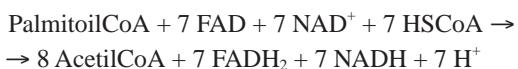


Figura 15-9. Esquema de la β-oxidación mitocondrial de los ácidos grasos.

Como en cada vuelta se libera una molécula de acetilCoA, excepto en la última, en la que los 4 últimos átomos de carbono no se escinden en dos de acetilCoA, serán, pues, precisas n/2 - 1 vueltas para β-oxidar un ácido de n átomos de carbono. Si partimos del ácido palmítico (C_{16}), el balance final será:



¿Cuántos ATP representa esto? En el interior de la mitocondria, cada $\text{NADH} + \text{H}^+$ equivale a 2.5 ATP y cada FADH_2 , a 1.5 ATP, mientras que la oxidación total de una acetilCoA genera 10 ATP (véase el Cap. 13). Como la obtención de una molécula de palmitoilCoA, a partir de ácido palmítico y HSCoA, consume de forma neta dos moléculas de ATP, el balance definitivo es que la oxidación total, a CO_2 y H_2O , de dicho ácido graso produce 106 moléculas de ATP. Por otra parte, globalmente, la oxidación total del ácido palmítico significa la producción de 16 moles de agua por mol de ácido. Si a ello se sumase la producción de agua asociada a la obtención de ATP, a partir de ADP y Pi, (véase el Cap. 13) la cantidad total se elevaría a 128 moles de agua. Se ha dado esta razón para explicar que haya animales, como los camélidos, con grandes depósitos de grasa, que pueden resistir sin comer, pero también sin beber, largas temporadas utilizando sus reservas grasas, lo que les permite vivir y trabajar en lugares desérticos. También los mamíferos acuáticos y las aves migratorias pueden emplear sus reservas grasas como

fuente de agua para sus tejidos. Sin embargo, la estequiometría anterior ha de tener en cuenta que el agua asociada a la formación de ATP se consume en su hidrólisis posterior.

La β-oxidación de los ácidos grasos insaturados naturales, sin embargo, no puede completarse con las cuatro enzimas que se han descrito anteriormente, porque contienen dobles enlaces *cis*; se precisan dos enzimas más. Para aclararlo, lo mejor es utilizar dos ejemplos, el de un ácido graso monoinsaturado, el ácido oleico ($\Delta^9 C_{18:1}$), y otro biinsaturado, el ácido linoleico ($\Delta^{9,12} C_{18:2}$).

La Figura 15-10 muestra la β-oxidación del ácido oleico. En las tres primeras vueltas se sigue el esquema normal, pero al comienzo de la cuarta la AcilCoA deshidrogenasa no puede funcionar, pues hay un doble enlace *cis* en C3, y tampoco la hidratasa, que sólo podría hacerlo sobre dobles enlaces *trans*. Para solucionar el problema se necesita una enzima adicional, la *enoilCoA isomerasa*, que cataliza la isomerización de los dobles enlaces 3-*cis* a 2-*trans*; tras su intervención, la hidratasa y las enzimas posteriores actúan sin problemas, culminando la cuarta vuelta y haciendo posible la degradación total del ácido oleico.

En el caso del ácido linoleico, con dos dobles enlaces *cis* en C9 y C12 (Fig. 15-11), las tres primeras vueltas, de nuevo, transcurren sin novedad, pero, en la cuarta, vuelve a presentarse el mismo caso que en el ejemplo anterior: no actuaría la deshidrogenasa, lo haría, en cambio, la *enoilCoA isomerasa*, y dicha vuelta terminaría sin problemas. Tampoco habría problemas al comienzo de la quinta: se produciría un compuesto

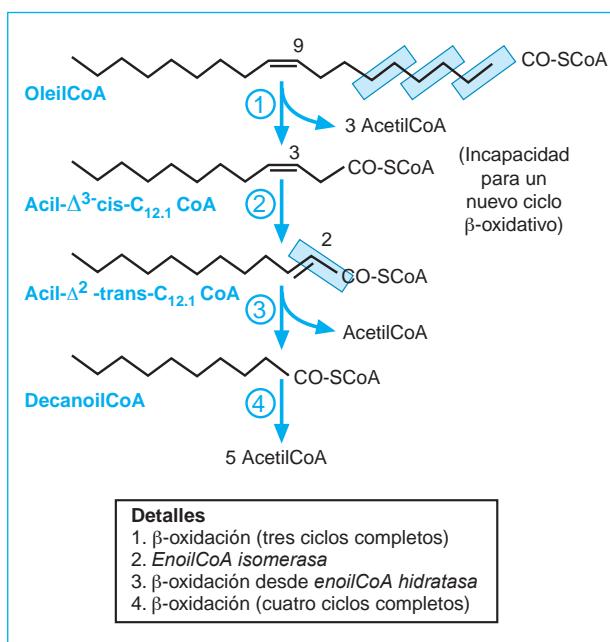


Figura 15-10. β -oxidación de los ácidos grasos monoinsaturados.

biinsaturado, 2,4-dienilCoA, de 12 átomos de carbono. Para continuar se necesita la sexta enzima, una *2,4-dieniloCoA reductasa*, que trabaja con $\text{NADPH} + \text{H}^+$, y produce un acilo monoinsaturado con un doble enlace *trans* en C3. Actúa nuevamente la enzima *enooilCoA isomerasa*, que lo transforma en el correspondiente acilo con doble enlace *trans* en C2. Ya no hay problemas para que acabe la quinta vuelta, ni tampoco para que lo hagan las tres restantes. Con la ayuda de estas enzimas 5 y 6, el ácido linoleico se puede degradar totalmente a 9 moléculas de acetilCoA.

Así pues, los mamíferos son capaces de escindir totalmente cualquier ácido graso insaturado, aunque, al hacer el balance energético final, cada doble enlace implica la obtención de una molécula neta menos de las coenzimas reducidas, FADH_2 o NAD(P)H , lo que significa que cada doble enlace supone la producción de 1.5 ó 2.5 moléculas menos de ATP de las que se obtienen del ácido graso saturado de igual longitud de cadena.

15.2.3 La variación peroxisómica

No es la mitocondrial la única β -oxidación que pueden sufrir los ácidos grasos en las células de los mamíferos. Existe una variación peroxisómica, incluso en los vegetales (Fig. 15-12), que parece especialmente activa para los *ácidos grasos saturados de cadena muy larga* (AGSML), los que tienen más de 20 átomos de carbono, y cuya oxidación por la ruta mitocondrial es problemática.

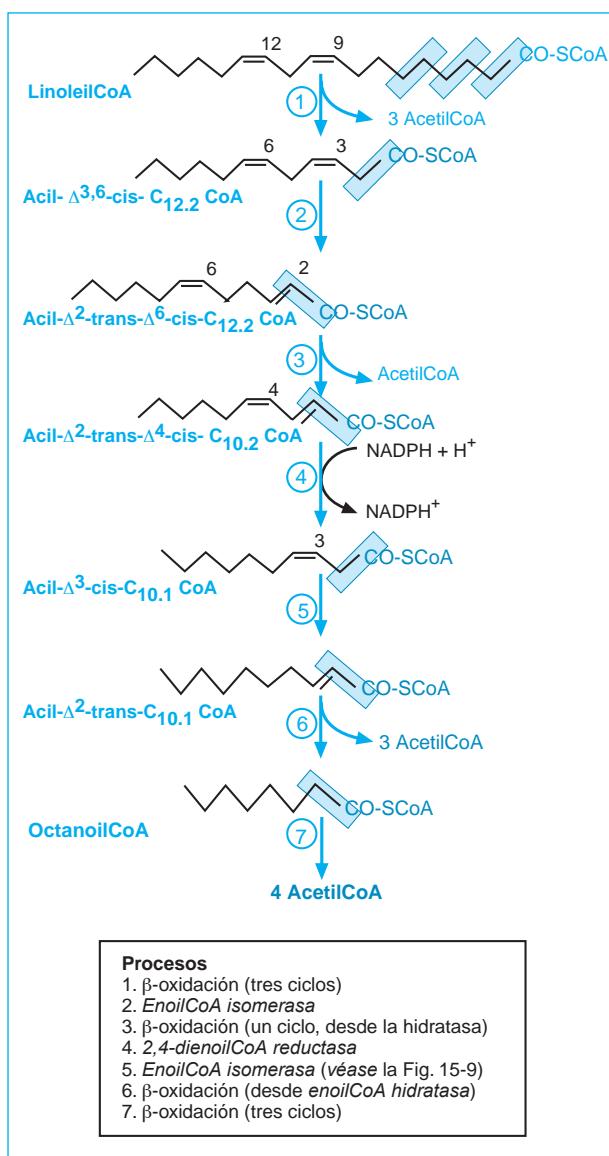


Figura 15-11. β -oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados.

La ruta se inicia igual que la mitocondrial, a partir de las acilCoA. Sin embargo, los peroxisomas carecen de *palmitoil carnitina transferasas*, por lo que los ácidos grasos deben penetrar libres o unidos a alguna molécula no identificada. En los peroxisomas hay *acilCoA sintetasas*, que convierten los AGSML en acilCoA (Recuadro 15-1). Dos transferasas específicas para grupos acilo y carnitina, *acetilCoA carnitina transferasa* y *octanoilCoA carnitina transferasa*, se encargan de sacar al citoplasma los productos de la β -oxidación parcial, es decir, octanoilCoA y acetilCoA, que pueden ser utilizados en otras partes de la célula, aunque parece que su destino prioritario es la mitocondria, donde la octanoilCoA

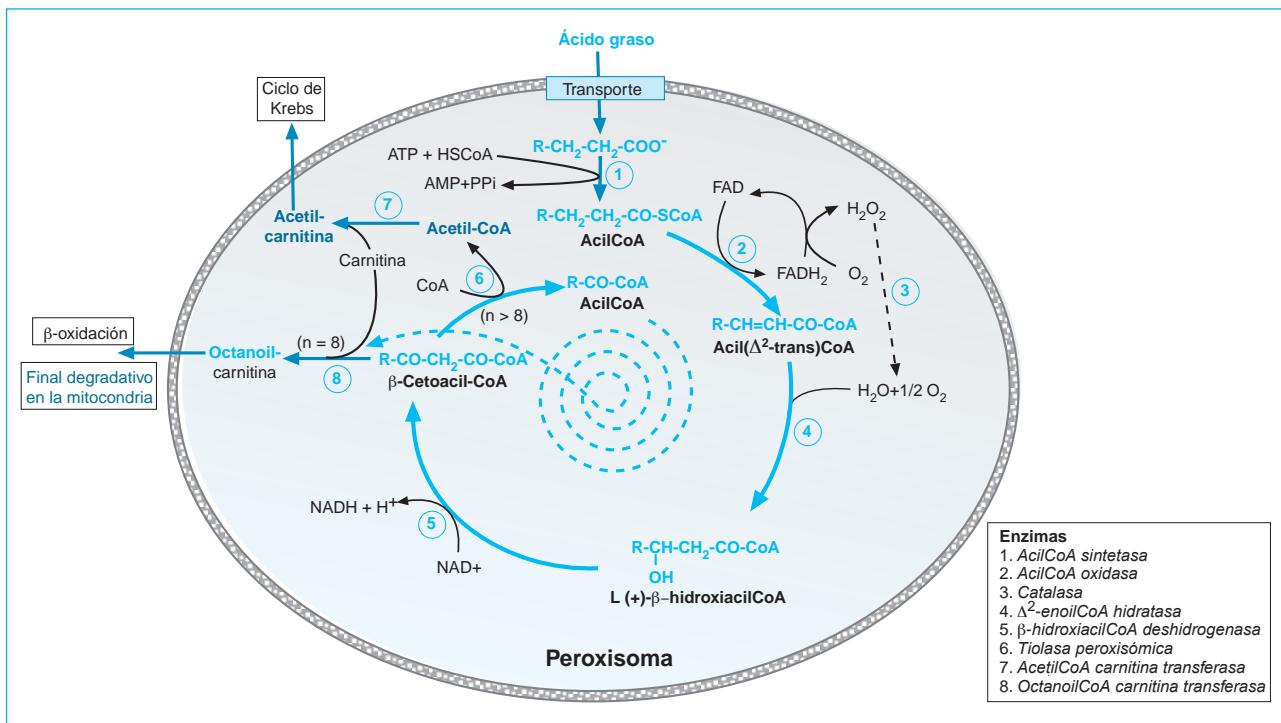


Figura 15-12. Vía peroxisómica de los ácidos grasos de cadena larga.

se incorpora a la β -oxidación mitocondrial, para terminar de descomponerse en acetilCoA.

La oxidación peroxisómica de los ácidos grasos es una versión defectiva de la mitocondrial. La diferencia entre ambas rutas surge de la diferente especificidad de las enzimas que constituyen la primera actividad. En los peroxisomas, la primera enzima es una *acilCoA oxidasa*, flavoproteína que utiliza FAD como grupo prostético, obviamente no acoplable a la cadena transportadora de electrones mitocondrial. La reoxidación de la flavina reducida la lleva a cabo directamente, mediante una *peroxidasa*, el oxígeno, por lo que no hay producción de ATP, sino de H_2O_2 , que se descompone gracias a una *catalasa* presente en el orgánulo.

Además, esta *acilCoA oxidasa* peroxisómica se convierte en no funcional cuando le llega el acilo de ocho átomos de carbono, octanoilCoA, para el que no tiene afinidad alguna. Los AGSCML, pues, pueden descomponerse en los peroxisomas sólo hasta octanoilCoA, pero para degradarse totalmente es preciso que, previa formación de octanoilcarnitina, salgan al citoplasma y sean transferidos a las mitocondrias para proseguir su β -oxidación.

El balance energético de esta ruta es diferente del de la mitocondrial. El ácido palmítico, por ejemplo, daría lugar, en la ruta peroxisómica, a una molécula de octanoilCoA, cuatro

de acetilCoA y cuatro de $NADH + H^+$. Cuando todo esto llegue a las mitocondrias, producirá 100 moléculas de ATP, en vez de las 106 de la ruta mitocondrial.

No hay, pues, una grave pérdida energética, pero esa pequeña pérdida sería asumible si, a cambio, se obtuviera alguna ventaja para el organismo, que no se sabe cuál pueda ser; tal vez, conseguir un mecanismo que permita escapar al control que la cadena transportadora de electrones ejerce sobre la β -oxidación mitocondrial. Sin embargo, la importancia de la ruta para degradar los AGSCML sí puede considerarse una compensación justificadora de dicha pequeña pérdida neta de ATP (Recuadro 15-1).

15.3 METABOLISMO DE LOS CUERPOS CETÓNICOS

Hay circunstancias, como la del ayuno, en las que se produce una movilización masiva de las grasas del tejido adiposo, generándose ácidos grasos que, unidos a la albúmina, llegan a los tejidos periféricos que los consumen para obtener energía; pero esos ácidos llegan también al hígado, en cantidades tales que puede existir el peligro de colapso de este tejido (hígado graso). Para evitarlo, este órgano acelera su conversión en unos compuestos, los cuerpos cetónicos, que pueden

Recuadro 15-1.

LA ADRENOLEUCODISTROFIA

La ruta peroxisómica de la oxidación de los ácidos grasos no es, en modo alguno, una ruta marginal: supone casi el 30% de la oxidación total de los ácidos grasos en el hígado de los mamíferos, y su disfunción ocasiona una grave enfermedad congénita, la adrenoleucodistrofia, que afecta a 1 de cada 20 000 varones (las mujeres sólo transmiten la enfermedad, no la sufren). Se manifiesta entre los 5 y los 12 años, con una grave insuficiencia suprarrenal y síntomas neurológicos muy discapacitantes, por desmielinización del sistema nervioso. El resultado es la pérdida rápida

de la motricidad y, finalmente, la muerte a los pocos años de la aparición de los síntomas. La causa parece ser la incapacidad genética de los afectados para fabricar una proteína, perteneciente a una superfamilia de transportadores de la membrana peroxisómica, que es necesaria para que las *acilCoA sintetasas* de AGSCML entren en los peroxisomas. Con este déficit enzimático, los AGSCML no se esterifican con CoA, no entran en la β -oxidación peroxisomal y acaban acumulándose en los tejidos, sobre todo en la corteza suprarrenal y el sistema nervioso, apareciendo el cuadro mencionado. La terapéutica tiene sólo carácter preventivo y consiste en eliminar los AGSCML de la dieta de

los posibles pacientes, portadores de la mutación. Sin embargo, el organismo los sintetiza, por lo que no basta con eliminarlos de la dieta; es preciso inhibir, parcialmente, esa síntesis. Como el sistema de elongación de cadena de los ácidos grasos (véase el apartado 15.4.3) prefiere los ácidos grasos insaturados a los saturados, se ha conseguido un alimento especial, llamado aceite de Lorenzo, formado por una mezcla de los ácidos insaturados oleico y erúcico (ácido graso presente en el aceite de colza, de 22 átomos de carbono y monoinsaturado), en proporción 1:4, que está dando interesantes resultados en la prevención del desarrollo de los síntomas clínicos, y en paliarlos.

ser rápidamente liberados a la sangre, lo que evita el problema. Por ello, son precisamente estos cuerpos cetónicos los metabolitos de origen lipídico cuya concentración en la sangre aumenta más durante el ayuno, pasando de 0.07 mM tras una comida hasta casi 8 mM después de 28 días de ayuno, y alcanzando valores superiores a 20 mM en situación de cetoacidosis diabética (Recuadro 15-2). Los cuerpos cetónicos, pues, no son productos marginales o sólo propios de situaciones patológicas, como se pensaba hace unas décadas, sino que son solucionadores de crisis, lo que hace interesante conocer su metabolismo.

Los cuerpos cetónicos son tres compuestos; dos de ellos, de cuatro átomos de carbono y de carácter ácido, solubles en el agua: acetacetato y β -hidroxibutirato. El tercero, minoritario, es la acetona (Fig. 15-13). Estos compuestos se sintetizan en el hígado por la condensación de hasta tres moléculas de acetilCoA, metabolito abundante en dicho órgano en situación de ayuno, por la activación de la β -oxidación de los ácidos grasos, pero que no se puede introducir a suficiente velocidad en el ciclo de Krebs por el carácter gluconeogénico que tiene entonces este órgano (véase el Cap. 14).

Las dos primeras actividades enzimáticas, *acetoacetilCoA sintetasa* e *hidroximetilglutarilCoA sintetasa*, coinciden con las del inicio de la síntesis del colesterol. El punto de separación lo constituye la escisión del β -hidroxi, β -metil glutarilCoA (HMGCoA) en acetilCoA y acetacetato gracias a *HMGCoA liasa*. El acetacetato, uno de los cuerpos cetónicos, podría salir del hepatocito, pero se transforma en β -hidroxibutirato, el otro cuerpo cetónico principal —de acetona sólo

se producen trazas, por descarboxilación espontánea de acetacetato, a pesar de lo cual es responsable del olor característico de estos compuestos, apreciable en el aliento de personas en ayunas— gracias a *β -hidroxibutirato deshidrogenasa*. En personas sanas, el β -hidroxibutirato suele ser el cuerpo cetónico predominante en la sangre, en proporción de 3:1 con acetacetato.

Al mandar estos productos a la sangre, el hígado, además de resolver el problema de la llegada masiva de ácidos grasos, está consiguiendo enriquecer el fluido en compuestos solubles, fácilmente captables por los tejidos periféricos, para ser usados como combustibles alternativos a la glucosa y los ácidos grasos. Esto es de gran importancia porque permite prolongar el período de supervivencia en ayunas, al reservar la glucosa para los órganos que más dependen de ella, los eritrocitos y el cerebro. El propio cerebro, en caso de ayuno prolongado, puede emplearlos como combustibles alternativos a la glucosa, siendo capaces de generar el 50% del ATP preciso. Su catabolismo, pues (Fig. 15-13) tiene lugar en órganos periféricos, incluido el cerebro: el β -hidroxibutirato debe convertirse previamente en acetacetato, mediante la *β -hidroxibutirato deshidrogenasa*. Finalmente, todo el acetacetato, el tomado de la sangre y el producido a partir de β -hidroxibutirato, es convertido en las mitocondrias de esos tejidos gracias a una enzima inexistente en el hígado, *tiaforasa*, en acetacetilCoA, sustrato de la última de las actividades enzimáticas de la β -oxidación, *tiolasa*, que lo escinde en dos moléculas de acetilCoA, listas para integrarse en el ciclo de Krebs.

Recuadro 15-2.

CETOACIDOSIS

La cetoacidosis consiste en una superproducción de cuerpos cetónicos que desborda la capacidad de los órganos consumidores para retirarlos de la sangre y catabolizarlos adecuadamente. En general, ello ocurrirá en los casos en que existe una gran producción de acetilCoA o una insuficiencia en el funcionamiento del ciclo de los ácidos tricarboxílicos para metabolizar adecuadamente la acetilCoA, aunque la concentración de ésta no sea excesiva. Los cuerpos cetónicos se acumulan en la sangre y, por su carácter ácido, producen desequilibrios. El organismo incrementa la excreción de los cuerpos cetónicos en la orina, lo que implica la

expulsión paralela de cationes para mantener el equilibrio electrolítico, así como de agua para equilibrar la osmolaridad. Ello conduce a deshidrataciones y pérdidas electrolíticas que, en casos extremos, pueden llevar al shock y hacer que la persona entre en coma. En resumen, las cetoacidosis producen un cuadro clínico que puede incluir:

- Vómitos y problemas gastrointestinales. Poliuria y polidipsia.
- Deshidratación.
- Taquicardia e hipotensión.
- Pérdida importante de peso.
- Respiración débil y rápida.
- Abotargamiento mental y coma.

Si recordamos que los intermedios del ciclo de los ácidos tricarboxílicos se reponían mediante las llamadas vías

anapleróticas (véase el Cap. 13), normalmente a partir de los metabolitos derivados del metabolismo de los hidratos de carbono, es comprensible que las cetoacidosis se intensifiquen cuando el catabolismo de los hidratos de carbono sea insuficiente o el catabolismo graso, excesivo. Por ello, son muy diversas las circunstancias que pueden ocasionar cetoacidosis: ayunos muy prolongados, diabetes, e incluso dietas exentas de, o muy escasas en, hidratos de carbono, del tipo de algunas de las tristemente popularizadas para perder peso rápidamente.

El tratamiento de la cetoacidosis suele comprender el control de la glucemia (mediante la administración de hormonas y una alimentación adecuada), así como el suministro de electrólitos.

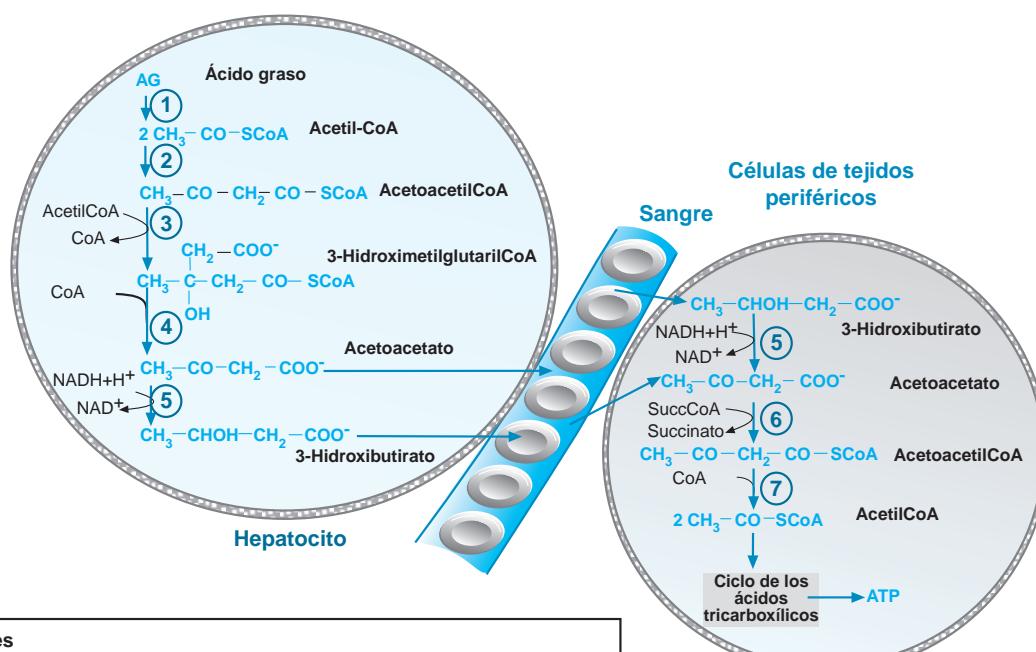


Figura 15-13. Metabolismo de los cuerpos cetónicos.

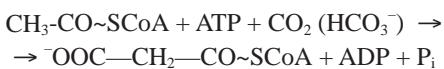
15.4 BIOSÍNTESIS DE LOS ÁCIDOS GRASOS

15.4.1 La sintasa de los ácidos grasos

Entre los componentes obligatorios de la dieta humana hay un pequeño grupo de ácidos grasos poliinsaturados, los ácidos grasos esenciales, que lo son porque el organismo no es capaz de sintetizarlos. Ello significa que el resto de los ácidos grasos, saturados o insaturados, sí pueden ser sintetizados en las células de los mamíferos.

En condiciones de alta disponibilidad de ATP, de acetilCoA, o de ambos, y de baja velocidad del ciclo de los ácidos tricarboxílicos, se sintetizan los ácidos grasos. La fuente de carbono para ello es acetilCoA, que puede proceder de los aminoácidos cetógenos o de los hidratos de carbono. Pero esta acetilCoA se forma en las mitocondrias (o en los peroxisomas), mientras que el sistema enzimático de la síntesis de los ácidos grasos, la *sintasa de ácidos grasos* o *palmitato sintasa*, es citoplasmática. Ya sabemos que no hay transportadores de acilCoA en la membrana mitocondrial; para que el precursor salga al citoplasma se necesita un sistema de lanzadera, de los que ya se han descrito algunos, el último en este mismo capítulo (véase el apartado 15.2.2). En concreto, el que actúa en este nivel ya ha sido descrito en un capítulo anterior (véase la Fig. 13-11). Cuando baja el nivel celular de ATP, se desbloquea el ciclo de Krebs y se paraliza la salida de citrato al citoplasma.

Para regular la síntesis de los ácidos grasos de manera independiente de la β -oxidación, la molécula clave no es la acetilCoA, sino otro metabolito, la malonilCoA, que se sintetiza a partir de aquélla. Antes de que actúe el complejo *sintasa de los ácidos grasos* debe actuar una enzima, la *acetilCoA carboxilasa*, encargada de catalizar esa conversión. Dado que es la responsable de suministrar el principal donador de carbonos para la *sintasa de ácidos grasos*, esta enzima es la que regula el funcionamiento global del proceso. La reacción que cataliza es:



La enzima puede encontrarse en dos formas diferentes. La forma más activa es un agregado de peso molecular muy alto ($4 \text{ a } 8 \cdot 10^6 \text{ Da}$), asociado a unas 20 moléculas de biotina, coenzima típica de las *carboxilasas*; la forma menos activa es de menor tamaño (entre $4 - 5 \cdot 10^5 \text{ Da}$), con sólo una biotina. El paso de una a otra forma está controlado por metabolitos que intervienen en el proceso, y constituye la clave de la regulación del proceso, tal como se describirá posteriormente.

Ya hemos dicho que la síntesis de los ácidos grasos (más concretamente, de palmitoilCoA), a partir de malonilCoA y

acetilCoA está catalizada, en mamíferos, por el sistema multienzimático *ácido graso sintasa*, integrado por siete actividades enzimáticas y una proteína sin actividad catalítica, la proteína transportadora de acilos (PTA) de 9.8 kDa, dotada con un grupo captador de acilos, la 4'-fosfopanteteína, también presente en la coenzima A (véase el Cap. 9), que se comporta como un largo brazo móvil a cuyo extremo, y gracias a su grupo tiol, permanece unido durante todo el proceso el grupo acilo en crecimiento, al que transporta hacia los centros activos de las diferentes actividades enzimáticas cuando es preciso, aumentando así la eficacia del sistema. En organismos inferiores, como las levaduras, las actividades enzimáticas son independientes entre sí, pero a lo largo de la evolución se han coaligado, lo que constituye una ventaja: los precursores entran al complejo y no lo dejan hasta haberse convertido en palmitoilCoA. La Figura 15-14 muestra el complejo y un esquema de lo que sería la primera vuelta al mismo.

Además de este tiol de la PTA, una de las siete actividades enzimáticas del complejo, la *β -cetoacil-PTA sintasa* (β -CS), contiene una cisteína, en su centro activo, cuyo grupo tiol desempeña también un papel fundamental en el proceso. Éste se inicia con la unión del acetilo de una molécula de acetilCoA, gracias a la actividad *acetilCoA-PTA transacilasa*, al tiol de la cisteína de β -CS. A continuación, la *malonilCoA-PTA transacilasa* transfiere un malonilo al tiol de la PTA (en algunos tejidos, esta enzima puede emplear metil-malonilCoA en vez de malonilCoA; esta menor especificidad introduce la posibilidad de que en dichos tejidos se puedan fabricar ácido palmítico ramificado que luego, tras la fase de elongación de cadena que se estudia a continuación, conduce a ácidos grasos ramificados); ya puede actuar la β -CS condensando el acetilo que porta su cisteína con los dos primeros carbonos del malonilo, mientras que el otro carbono sale como CO_2 . Se forma así, sobre el tiol de la PTA, un β -cetoacilo que va a sufrir, siempre unido a ese tiol, la acción del resto de las actividades. Actúan, sucesivamente, una *β -cetoacil-PTA reductasa*, una *β -cetoacil-PTA deshidratasa* y una *enoil-PTA reductasa*.

Las dos reductasas consumen $\text{NADPH} + \text{H}^+$. Tras la segunda reductasa, se produce una translocación del grupo butirilo del tiol de la PTA, donde se ha creado, al de la cisteína de la actividad β -CS, y acaba la primera vuelta al sistema. Por ello, al comienzo de la segunda vuelta (y de las siguientes), al estar ocupado el tiol al que pueden unirse los grupos acetilo por los sucesivos acilos en crecimiento, no puede volver a actuar la *acetilCoA-PTA transacilasa*, por lo que todas esas vueltas posteriores a la primera se inicián con una actividad *malonilCoA-PTA transacilasa*, que introduce un nuevo malonilo en el tiol de PTA; tras ello, el proceso continúa como en la primera vuelta. Por tanto, para formar el acilo de 16 átomos de carbono, son precisas siete vueltas completas al sistema.

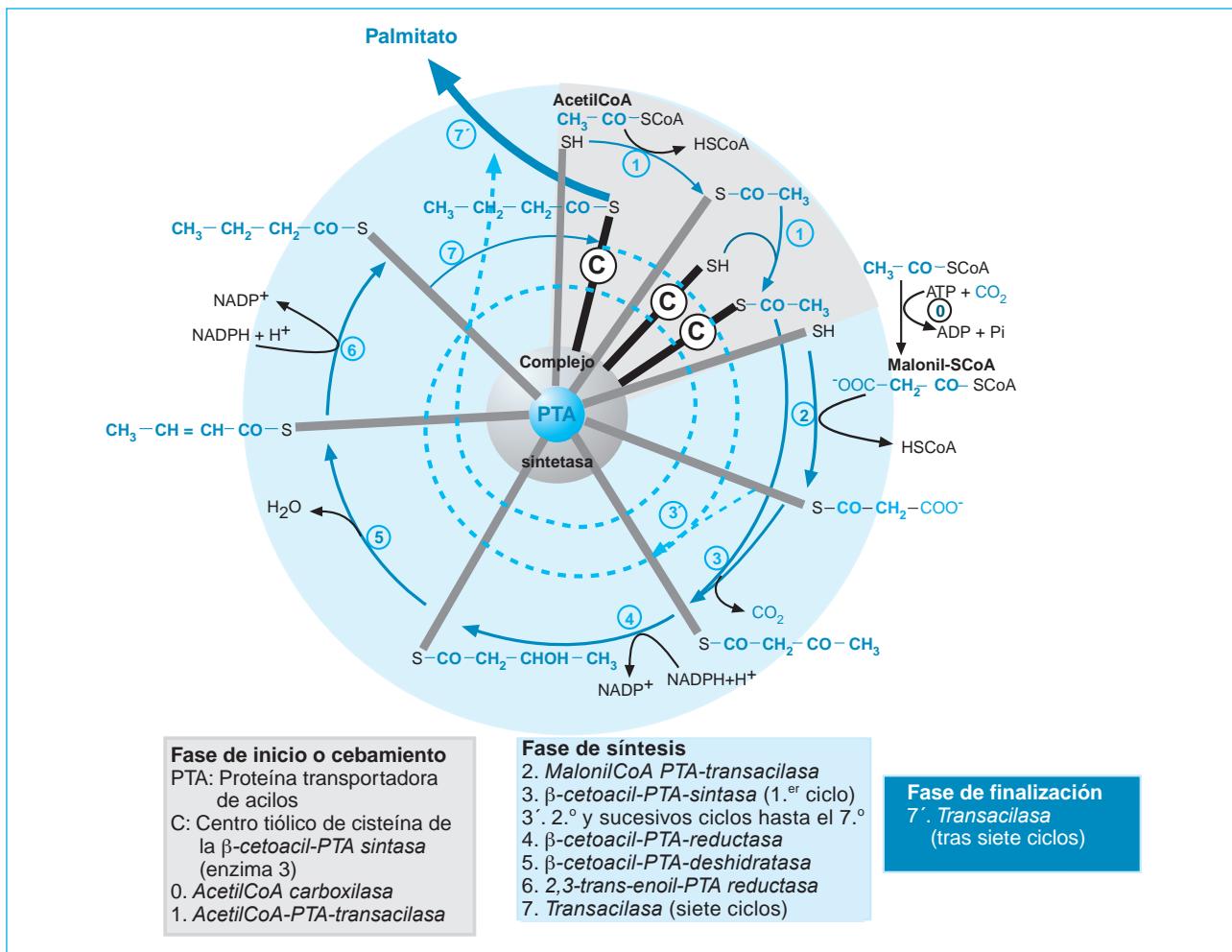
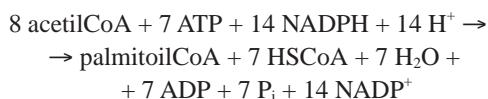


Figura 15-14. Complejo sintetasa de los ácidos grasos.

Por razones complejas, el alargamiento del acilo no continúa después de que se alcancen los 16 átomos de carbono; llegado este punto, se libera la molécula de palmitato y, mediante una actividad de tipo *acilCoA sintetasa*, la séptima del complejo *ácido graso sintasa*, que sólo actúa en este momento, se convierte en palmitoilCoA, el producto final de la actividad de dicho complejo.

Si se suman, paso a paso, todos los que han sido necesarios para alcanzar una molécula de palmitoil CoA, el balance sería:



15.4.2 Regulación de la síntesis de los ácidos grasos

La regulación de este proceso de síntesis la efectúan metabolitos cuya presencia es una señal de la disponibilidad, o no,

de la célula para invertir ATP en fabricar ácidos grasos. Como la *acetilCoA carboxilasa* tiene dos formas, una más activa que la otra, el desplazamiento del equilibrio entre ambas constituye el principal mecanismo de regulación, ya que esta enzima es la fuente de aprovisionamiento de malonilCoA, el principal suministrador de carbonos para la *sintasa de ácido graso*. El citrato, cuyo nivel citoplasmático es una señal del estado energético celular y, por tanto, de la existencia de remanentes para la síntesis de los ácidos grasos, es el principal inductor de la transformación de la forma monomérica, menos activa, de la enzima, a la polimérica, más activa. PalmitoilCoA y la propia malonilCoA, por el contrario, son desagregadoras de la enzima y, por tanto, inhiben la síntesis.

Así pues, el citrato es fundamental para la síntesis de los ácidos grasos por tres razones: puede salir de la mitocondria, gracias al transportador de tricarboxilatos de la membrana

interna mitocondrial; puede convertirse en acetilCoA, gracias a la *citrato liasa* citoplasmática, e induce la activación de la enzima que controla el proceso de síntesis de los ácidos grasos, la *acetilCoA carboxilasa*.

15.4.3 Sistemas de elongación y desaturasas

Pero los mamíferos no sólo pueden sintetizar ácido palmitíco; sus células disponen, por una parte, de sistemas de elongación de cadena de ácidos grasos, que permiten alargarla hasta C₁₈, en el caso de los ácidos grasos saturados, y hasta C₂₆, en el de los insaturados. Por otra parte, también tienen sistemas enzimáticos denominados *desaturasas de ácidos grasos*, reductasas que introducen dobles enlaces cis en tres posiciones diferentes de la cadena (Δ^5 , Δ^6 y Δ^9 desaturasas). Sin embargo, no se pueden introducir dobles enlaces en posiciones posteriores a C9.

Por ello, los ácidos grasos insaturados con dobles enlaces en posiciones posteriores al carbono 9 no pueden ser sintetizados por los mamíferos y deben ser ingeridos en la dieta; de ahí su carácter de esenciales. Entre los que tienen gran interés biológico por sí mismos, o por ser precursores de biomoléculas fundamentales, cabe destacar el *ácido linoleico* ($\Delta^{9,12} C_{18:2}$), el *linolénico* ($\Delta^{9,12,15} C_{18:3}$), y el *araquidónico* ($\Delta^{5,8,11,14} C_{20:4}$), este último, importante precursor de las prostaglandinas y los tromboxanos (véase el Cap. 6). Sin embargo, este ácido graso poliinsaturado, gracias a los sistemas de elongación y desaturasas existentes, puede fabricarse a partir del linoleico, por lo que, si se toma éste, no es imprescindible el araquidónico (Fig. 15-15).

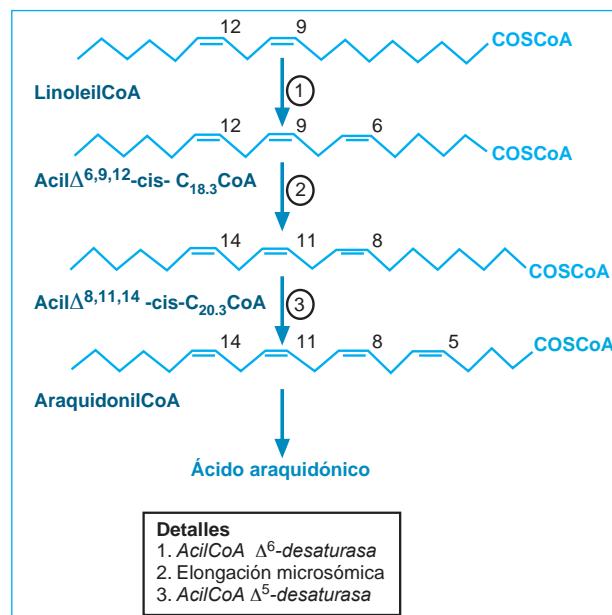


Figura 15-15. Sistema de desaturación de los ácidos grasos.

15.5 BIOSÍNTESIS DE LAS GRASAS

Las grasas o triacilgliceroles (TAG) se sintetizan en casi todos los tejidos de mamíferos, sobre todo en el hígado y el tejido adiposo, cuando las condiciones energéticas son favorables, ya que son las moléculas más adecuadas para almacenar energía debido a su hidrofobicidad, lo que asegura un depósito muy energético por unidad de peso, además de que, como ya hemos visto anteriormente, al degradarse, suministran no sólo ATP sino agua. Por ello, no sólo los lípidos en exceso, sino los hidratos de carbono, e incluso, buena parte de los aminoácidos en exceso pueden convertirse en TAG si las circunstancias lo permiten. En el hígado, los TAG se incorporan a la formación de lipoproteínas, sobre todo VLDL (véase el apartado 15.1), lo que les permite salir a la sangre y ser transportados hasta los tejidos consumidores de ácidos grasos, mientras que los TAG del tejido adiposo se depositan allí como reserva hasta que llega el momento de su movilización.

Los ácidos grasos que se emplean para la síntesis de TAG, procedentes de la dieta o sintetizados en el tejido, deben ser activados a acilCoA; el otro sustrato, el glicerol, puede proceder de los TAG previamente hidrolizados o de intermedios de la glicólisis, y también debe activarse previamente a glicerolfosfato (Fig. 15-16). En el intestino, la sínte-

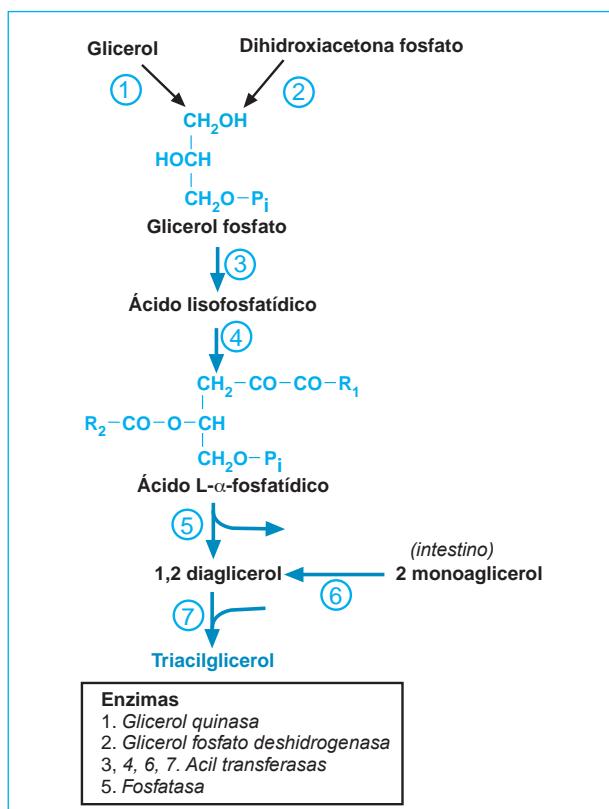


Figura 15-16. Biosíntesis de los triacilgliceroles.

sis de TAG, destinados tanto al uso en ese tejido, como al paso a la sangre de los lípidos de la dieta en forma de quilomicrones, se hace a partir del producto mayoritario de la digestión de las grasas, el 2-monoacilglicerol (2-MAG).

Aunque la especificidad de las *acil transferasas* que intervienen no lo explique totalmente, un porcentaje muy alto de los TAG tiene un ácido graso saturado (palmítico o esteárico) en el carbono 1 del glicerol, mientras que en los carbonos 2 y 3 suele haber uno insaturado, casi siempre oleico ($\Delta^9\text{C}_{18:1}$).

15.5.1 Obesidad

El equilibrio entre grasa depositada y movilizada está regulado hormonalmente; no obstante, hay ocasiones en que se producen descontroles en la ingestión de compuestos de carácter lipídico, o en la regulación hormonal, y el equilibrio puede inclinarse hacia alguno de los extremos. Cuando lo que se pro-

duce es un predominio de la deposición de grasas, la persona tiende a sufrir sobrepeso, que a partir de determinados valores puede convertirse en obesidad, problema que en los países ricos supone una grave preocupación sanitaria y estética.

En el Recuadro 15-3 se define el concepto de *Índice de Masa Corporal* (IMC), aceptado universalmente como parámetro cuyo valor indica el estatus de una persona en relación con el peso, en función de los límites que se indican. Como se puede comprobar, el valor de IMC que marca la frontera entre la normalidad, el sobrepeso y la obesidad es 25.

No hay una causa específica de la obesidad; mientras que el color de los ojos viene determinado por uno o dos genes, el peso corporal se determina por muchos; al menos, entre el 60% y el 70% de factores que gobiernan el peso son genéticos. En el Recuadro 15-4 se comentan algunos aspectos concretos relacionados con la farmacología de la obesidad, más específicamente en relación con las posibles hormonas reguladoras de la misma.

Recuadro 15-3. ÍNDICE DE MASA CORPORAL Y OBESIDAD

Tabla 15-3. Índice de masa corporal (IMC) y obesidad

$\text{IMC} = \frac{\text{Peso (kg)}}{\text{Altura}^2 (\text{m}^2)}$	
Situación	IMC
Peso insuficiente	< 18.5
Peso normal	18.5-24.9
Sobrepeso grado I	25-26.9
Sobrepeso grado II	27-29.9
Obesidad tipo I	30-34.9
Obesidad tipo II	35-39.9
Obesidad tipo III (mórbida)	40-49.9
Obesidad tipo IV (extrema)	> 50

ALGUNOS DATOS

En la LV Asamblea Mundial de la Salud, celebrada en Ginebra en 2002, la Organización Mundial de la Salud (OMS) volvió a calificar a la obesidad

de epidemia y alertó sobre el aumento de la tendencia a padecerla en todos los países; como argumento decisivo se aportó un dato: en esas fechas había, en todo el mundo, 22 millones de niños menores de cinco años con exceso de peso. Un año después, un estudio universitario denunció el aumento de los casos de obesidad infantil en España: en 20 años, la tasa de niños, de entre 4 y 16 años afectados de obesidad había pasado del 5% al 12%, mientras que los que, en esas mismas edades, padecían de sobrepeso en sus diferentes grados alcanzaba el 30%. Datos más generales sobre la totalidad de la población española, debidos a un estudio del año 2000 de la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad, hablaban de un 14.5% de personas obesas (un 15.7% de mujeres y un 13.3% de los hombres), con una cota de obesidad mórbida del 0.5% —datos más recientes la multiplican por tres, hasta 1.5%— mientras el sobrepeso afectaba al 39% de la población, desglosado en un 32% de mujeres y un 45% de hombres. Habida cuenta de la estrecha relación entre sobrepeso, obesidad y riesgo de padecer enfermedades como diabetes tipo 2, ya se han llegado a diagnosticar diabetes de este

tipo en niños, así como hipertensión, apnea obstructiva del sueño, etcétera.

Se calcula que una de cada 11 mujeres en España tiene que ver con el exceso de peso y que el impacto económico del tratamiento de todas las enfermedades que origina la obesidad en el sistema sanitario representa más del 7% del total de gasto. Son más preocupantes todavía los datos de países como los Estados Unidos o el Reino Unido; existe, pues, la necesidad de luchar activamente contra esta enfermedad en la mayoría de los países desarrollados, que son los que disponen de mayores fondos para la investigación, tanto pública como privada. Por si estos acicates no bastaran, datos recientes abonan la idea de que las gestantes obesas contribuyen a desencadenar en sus hijos un mayor índice de malformaciones congénitas que las diabéticas. En concreto, el 3.8% de bebés nacidos de madres obesas presentaron este tipo de malformaciones, porcentaje que dobla el de la población general y es significativamente superior que el de las madres diabéticas. Por todo ello, es lógico que el esfuerzo inversor dedicado a investigar las causas de la obesidad y a ponerle remedio sea muy notable.

Recuadro 15-4.**OBESEZ: HORMONAS Y NUEVOS TRATAMIENTOS FARMACOLÓGICOS**

En los comienzos de la última década del siglo anterior se comenzaron a conocer una serie de moléculas relacionadas con las denominadas *Hormonas del hambre*, tales como leptina, neuropeptido Y, orexinas, melanocortinas, etcétera.

La leptina es una hormona peptídica de bajo peso molecular (16 kD), que se sintetiza primariamente en tejido adiposo en respuesta al nivel de grasas acumuladas, siendo segregada a la sangre de donde fluye hasta el hipotálamo para, mediante su unión a receptores específicos, producir sensación de saciedad y detener la ingesta. La hormona humana es bastante homóloga a la de otras especies como ratas y ratones. Por eso, cuando se comprobó que determinadas cepas de ratones obesos carecían de leptina, y que si se les inyectaba la hormona procedente de animales normales perdían peso rápidamente, pareció que se podía haber alcanzado una solución para la obesidad humana. No fue así: todos los seres humanos producen la hormona y, tanto obesos como delgados, cuanta más grasa consumen tanta más leptina mandan a la sangre. El problema es que mientras en las personas delgadas la leptina funciona —cuanto más se come, más leptina se produce y mayor es su efecto en producir saciedad—, en los obesos una ingesta mayor también hace que se fabrique y se segregue más leptina, pero ello no conduce a detener la ingesta, como en los delgados.

¿Por qué ocurre esto? Para ejercer su acción, la leptina debe llegar hasta el

líquido cefalorraquídeo; existe un sistema de transporte activo que facilita dicho paso que parece no funcionar en los obesos. Los delgados presentan una concentración de leptina en el cerebro directamente proporcional a la existente en la sangre, mientras que en el cerebro de los obesos dicha concentración es muy inferior, debido a una disfunción en su sistema de transporte. El problema no es, pues, que no fabriquen leptina sino que la leptina no llega al hipotálamo y, por tanto, no ejerce su función. Por ello, la leptina no es utilizable como fármaco para inducir descensos de peso. Sin embargo, algunos pacientes obesos que han conseguido perder peso, recuperan la sensibilidad frente a la leptina que habían perdido cuando eran obesos. Actualmente se trabaja en encontrar leptinas de segunda generación, o moléculas más solubles que se parezcan a ella y que sean más estables, para que permanezcan más tiempo en la corriente sanguínea. También se intenta obtener moléculas de menor tamaño que la leptina que superen más fácilmente la barrera hematoencefálica.

Otra línea de interés farmacológico es la de las proteínas desacoplantes mitocondriales (UCP), que son puertas de disipación de la fuerza protón motriz que se origina en la cadena transportadora de electrones: eliminan la energía como calor. La primera que se descubrió fue la UCP1, en el tejido adiposo pardo; después se identificaron otras en el tejido adiposo blanco (UCP2) y las células musculares (UCP3). Cuanto mayor sea el número de estas proteínas, por ejemplo en el tejido adiposo, tanto mayor será el porcentaje de calorías que se disiparán. Evidentemente, es una

característica genética poseer más o menos de estas proteínas en los diferentes tejidos, lo que ayuda a explicar las diferencias entre individuos y familias. Por ello, la Genómica ofrece esperanzas de conseguir inducir la expresión de los genes de estas proteínas desacoplantes en personas con problemas de obesidad.

Las orexinas —del griego *orexis*, apetito— son una familia de neuropeptidos hipotalámicos que parecen regular el comportamiento alimenticio. La orexina A y la orexina B se derivan del mismo precursor, que se escinde en dos, dentro y alrededor del área hipotalámica lateral. A diferencia de la leptina, estos péptidos aumentan notablemente la tendencia a tomar alimentos cuando se suministran al cerebro: tras un ayuno de 48 horas, el nivel hipotalámico del ARNm de pre-pro-orexina se incrementa entre dos y cuatro veces respecto del de los animales control, lo que parece probar su papel en la mediación del mecanismo *feed-back* (retroalimentación) central que regula el balance general de energía. Estos péptidos están siendo utilizados en el tratamiento de la cada vez más grave —en los países desarrollados— enfermedad mental relacionada con el peso corporal conocida como anorexia nerviosa.

Las personas con grados inferiores de obesidad pueden ser tratadas con un nuevo tipo de fármacos semejantes al primeramente desarrollado, el orlistat. Este compuesto actúa uniéndose a la *lipasa pancreática*, la enzima responsable de la digestión de los TAG de la dieta (véase el Capítulo 11) en el lumen intestinal, impidiendo, parcialmente, su hidrólisis en ácidos grasos libres y 2-monoacilgliceroles.

15.6 METABOLISMO DE LOS LÍPIDOS COMPLEJOS

Los lípidos complejos, entre los que destacan los glicolípidos, esfingolípidos, cerebrósidos, gangliósidos, etcétera (véase el Cap. 6), participan en la formación de las membran-

nas biológicas, dado su carácter de moléculas anfipáticas, por lo que su propio metabolismo está estrechamente relacionado con el de esos componentes fundamentales de la célula (véase el Cap. 10).

Estos materiales de membrana se renuevan mediante síntesis *de novo* en el retículo endoplasmático, donde están las

enzimas diseñadas para ello. Después, pasan al aparato de Golgi para formar parte de las membranas de las vacuolas, que avanzan hasta fundirse con las membranas diana, tanto la plasmática, como las de los otros orgánulos, integrándose en ellas. Por tanto, es durante el proceso de la exocitosis, habitual en todos los tejidos, aunque la frecuencia varía mucho de unos a otros y según la especie, que llega a las membranas un aporte de nuevas moléculas de lípidos complejos para sustituir a los preexistentes.

El remodelado de las membranas se completa gracias al proceso, complementario y simultáneo, de la endocitosis constitutiva, por el que, de forma espontánea y cada cierto período de tiempo, determinadas porciones de la membrana plasmática se invaginan, captando materiales extracelulares, y acaban por escindirse de la membrana como vacuolas endocíticas que se funden con los lisosomas, cuyos enzimas degradativos catalizan tanto los materiales absorbidos, como las moléculas constituyentes de las membranas endocíticas.

No profundizaremos aquí en la biosíntesis de estos compuestos, que es bastante compleja, pero sí explicaremos su degradación, pues la disfunción de estas vías produce numerosas enfermedades, graves y casi siempre congénitas, denominadas lipidosis, que en su mayor parte son enfermedades lisosomales (Recuadro 15-5).

15.7 METABOLISMO DEL COLESTEROL Y SUS DERIVADOS

15.7.1 Metabolismo del colesterol. Su regulación

El colesterol es un compuesto esencial en los tejidos, pues forma parte de las membranas celulares y es el precursor inmediato de varias biomoléculas esenciales, como las hormonas esteroideas y los ácidos biliares. Este colesterol procede de la dieta o de su síntesis *de novo*, que tiene lugar en casi todos los tejidos, pero especialmente en el hígado, la

Recuadro 15-5. ENFERMEDADES LISOSOMALES

Los lisosomas son orgánulos degradativos que tienen un pH ácido y contienen enzimas hidrolizantes de lípidos, mucopolisacáridos, proteínas, glucógeno, etcétera. Una enfermedad lisosomal es un estado patológico producido primariamente por un defecto congénito de una de las enzimas catabólicas lisosomales o por un fallo de la membrana lisosomal. El resultado es que alguna macromolécula no es degradada y se acumula en el lisosoma o fuera del mismo. La consecuencia, a medio plazo, sobre todo en el caso de la acumulación lisosomal, es que el orgánulo se hincha, lo que dificulta su funcionamiento y el de la célula a la que pertenece; esta situación puede llegar a colapsar la célula, el tejido e, incluso, el organismo.

Los lisosomas están presentes en todos los órganos y tejidos, por lo que todos pueden verse afectados. El hígado posee un papel metabólico primordial, razón por la que frecuentemente se produce hepatomegalia. El sistema nervioso puede verse gravemente afectado, y el aumento de tamaño y la alteración del

cerebro suelen producir ceguera, deformación del macizo facial y retraso mental, mientras que en el músculo se produce parálisis. Entre las numerosas enfermedades lisosomales las más importantes son las glucogenosis, las esfingolipidosis, las mucopolisacaridosis y el síndrome de Chédiak-Higashi (en el que se altera, por problemas de membrana, la formación de fagolisomas).

Como ejemplo de esfingolipidosis podemos citar la enfermedad de Tay-Sachs, rara en la población mundial, pero con alta incidencia (1:3600 nacidos; 1:30 porta el gen recesivo) entre

los judíos de origen ashkenazi, que constituyen casi el 90% de los hebreos estadounidenses: los afectados carecen de la enzima lisosomal *N-acetil-hexosaminidasa*, que hidroliza un enlace glicosídico entre la N-acetil D-galactosamina y el subsiguiente residuo D-galactosa del gangliósido denominado GM₂, que no puede transformarse en GM₃, deteniéndose así su degradación (Fig. 15-17). En los homocigóticos, la acumulación de este intermediario catabólico ocasiona la degeneración del tejido nervioso, retraso mental, ceguera y muerte prematura del afectado.

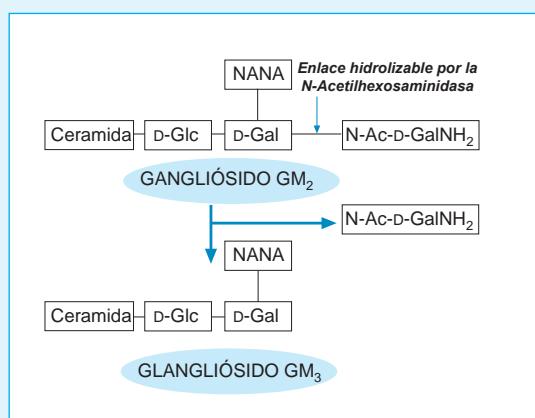


Figura 15-17. Esfingolipidos. Déficit enzimático en la enfermedad de Tay-Sachs.

corteza suprarrenal, la piel y el intestino. Generalmente, es superior la cantidad de colesterol sintetizado *de novo* que el procedente de la dieta: un adulto sintetiza unos 9 mg de colesterol por kg de peso y día.

El precursor primario es la acetilCoA, y las dos primeras etapas de la ruta de la síntesis son idénticas a las descritas en la síntesis de los cuerpos cetónicos en las que se formaba HMGCoA. A partir de este metabolito, la ruta se hace específica, actuando la enzima reguladora β -HMGCoA reductasa, que origina el primer precursor específico, el mevalonato (Fig. 15-18).

Después, tras una serie de reacciones partiendo de dos isómeros de un compuesto de un carbono menos que el mevalonato, derivados del isopreno (véase el cap. 6) de los que se condensan hasta seis moléculas, se produce el primer precursor cíclico del colesterol, el lanosterol, que, por diversas y complejas rutas, acaba produciendo colesterol.

El organismo dispone de un complejo sistema de control para que el nivel global de colesterol se mantenga equilibrado,

metabolizando y excretando su exceso. La regulación de la síntesis la hace el propio colesterol: cuando su nivel es alto, mediante una serie de acciones complejas que implican tanto inhibición, como represión y aceleración del recambio degradativo de la enzima clave, la HMGCoA reductasa, detiene la síntesis de colesterol en un ejemplo de retroregulación.

Los mamíferos no pueden degradar totalmente la molécula del colesterol, ni el organismo humano puede eliminarlo por la orina. En ésta sólo aparecen pequeñas cantidades de derivados catabólicos de las hormonas esteroideas, sintetizadas a partir del colesterol, existiendo otras eliminaciones marginales por la descamación de la piel o la renovación de los enterocitos. La forma cuantitativamente más importante de excretar colesterol es la salida de la bilis al intestino, pues dicho líquido contiene colesterol libre que el hígado le inyecta, además de ácidos biliares, fosfolípidos y pigmentos. Si dicha inyección es excesiva, la insolubilidad del colesterol puede convertir la bilis en litógena, lo que puede culminar con la aparición de esteatorrea (véase el Cap. 11).

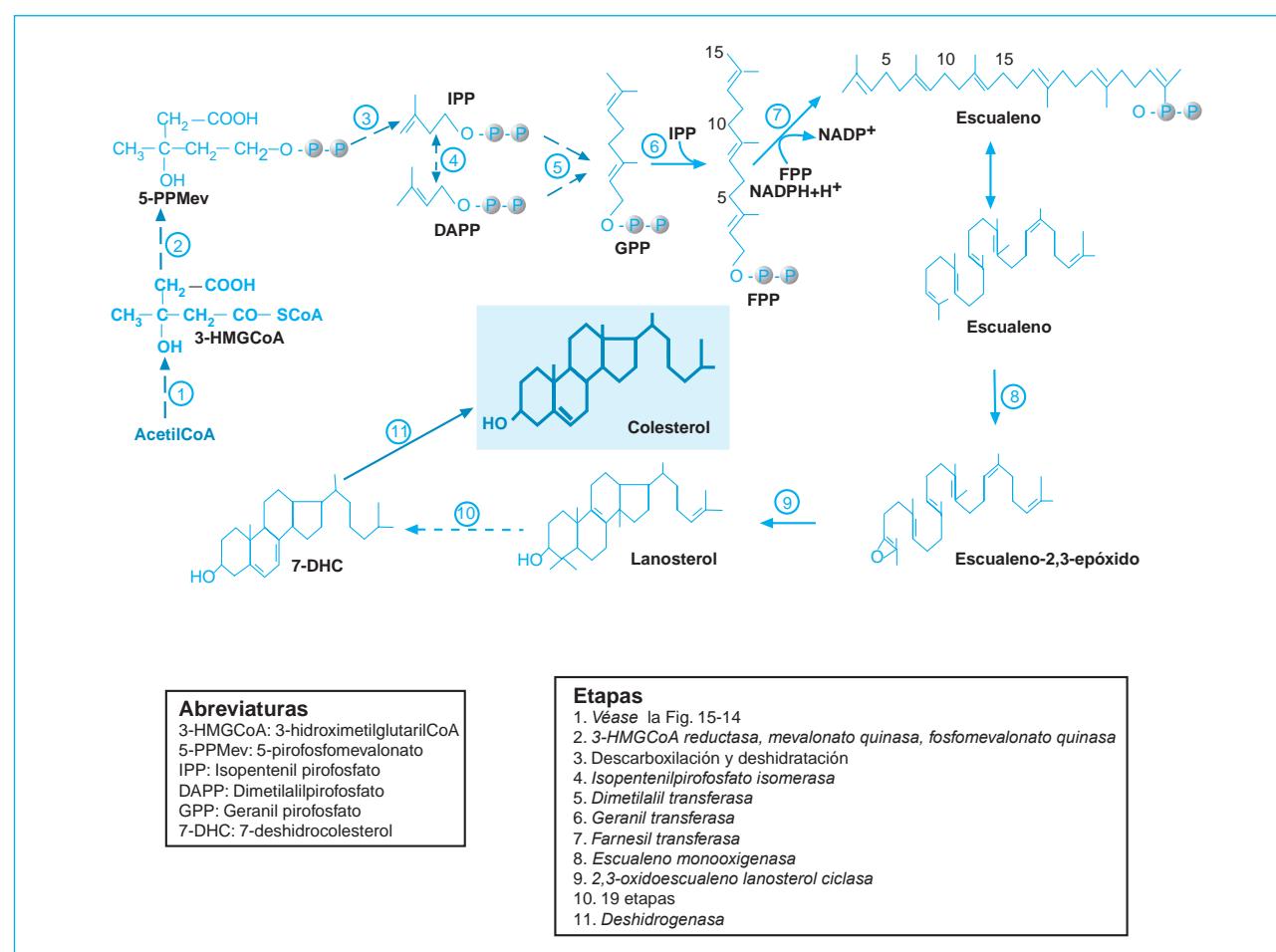


Figura 15-18. Biosíntesis del colesterol.

También el hígado puede librarse de parte del colesterol convirtiéndolo en ácidos biliares, concretamente en dos de ellos, los ácidos cólico y quenodesoxicólico, sintetizados por los peroxisomas de sus células parenquimatosas. Los otros dos, los ácidos desoxicólico y litocólico, no son sintetizados por el hígado, sino que se obtienen tras la eliminación, gracias a enzimas bacterianas del intestino, del grupo α -hidroxilo, que tanto el ácido cólico como el quenodesoxicólico tienen en posición 7. En la bilis, buena parte del contenido en todos los ácidos biliares se encuentran conjugados con dos aminoácidos, glicina y taurina —la conjugación la cataliza una enzima hepática—, lo que hace bajar su pK_a y los facilita aún más para su misión emulsionante. La Figura 15-19 resume la ruta de biosíntesis hepática de los ácidos biliares. Sin embargo, la formación de estos compuestos no gasta mucho colesterol, pues en el feto hay un eficaz sistema de reciclaje enterohepático de los ácidos biliares, que recupera cada día más del 90% del total de las moléculas, conjugadas o no, que pasan por el intestino.

El colesterol es también el precursor de varias hormonas esteroideas, como los mineralocorticoides y glucocorticoïdes, sintetizados en la corteza suprarrenal, la progesterona, en el cuerpo lúteo y las hormonas sexuales, producidas principalmente en los órganos sexuales (ovario y testículo).

15.7.2 Hipercolesterolemia

Los niveles de colesterol en la sangre dependen del equilibrio entre su ingestión y su síntesis, por un lado, y su excreción, por otro. Si falla algo, puede haber subidas persistentes e indeseables del mismo y la aparición, a medio plazo, de graves problemas de salud.

Como ya se ha indicado, la ingestión y la síntesis de colesterol están relacionadas: el propio colesterol, al llegar a los tejidos, reprime su síntesis. También se ha descrito cómo el colesterol, al no ser hidrosoluble, circula por los líquidos biológicos, sangre y linfa, formando parte de dos lipoproteínas (véase la Tabla 15-1), LDL y HDL, preferentemente esterificado con ácidos grasos.

En cualquier caso, si aumenta mucho la concentración de las lipoproteínas, éstas pueden superar el nivel de solubilidad admitido y empezar a depositarse en las paredes de los vasos sanguíneos. Esas deposiciones, fundamentalmente de LDL, se denominan ateromas, y la patología que se presenta cuando se generalizan, aterosclerosis. La hipercolesterolemia, pues, conlleva un aumento de la concentración sérica de LDL —el «colesterol malo»— y el desarrollo de aterosclerosis, lesiones de arterias y, en último extremo, problemas cardio-circulatorios (infarto de miocardio, angina de pecho o hemorragia cerebral) (Recuadro 15-6).

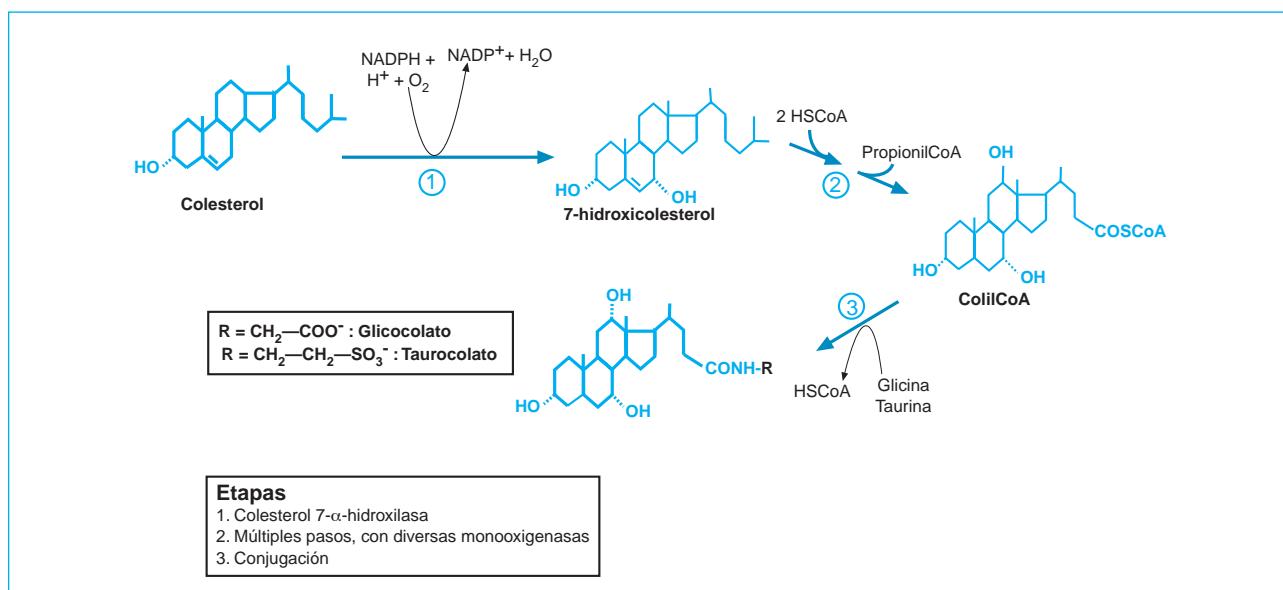


Figura 15-19. Biosíntesis hepática de los ácidos biliares.

Recuadro 15-6.**HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR**

Un tipo de hipercolesterolemia muy interesante es el de la denominada hipercolesterolemia familiar, una enfermedad congénita que se produce como consecuencia de la disminución de la capacidad de eliminación de las LDL de la corriente sanguínea, debido a una mutación disfuncional de su receptor. Dicha lipoproteína culmina su ciclo (*véase* el apartado 15.1.2, metabolismo de LHDL) siendo captada por numerosos tejidos, incluido el hígado, por un mecanismo de endocitosis mediada por receptor (Fig. 15-20). Los receptores de LDL desempeñan un papel fundamental en el proceso: si no los hay, o no funcionan, no hay endocitosis; en ese caso, aumenta la concentración plasmática de LDL y se multiplican las posibilidades de trastornos cardiocirculatorios. De hecho, los heterocigotos para esta enfermedad (1:500 recién nacidos) tienen, desde muy jóvenes, un nivel sérico de LDL dos veces superior al normal, lo que hace que empiecen a sufrir infartos de miocardio a edad tem-

prana (más de la quinta parte de los infartos sufridos por personas menores de 60 años los padecen ellos). Mucho más grave es la situación de los homocigotos ($1:10^6$ recién nacidos), que no han recibido ningún gen funcional de

sus progenitores: su nivel de LDL es seis veces superior al normal desde muy jóvenes; comienzan a tener infartos de miocardio hacia los dos años y raramente consiguen alcanzar la edad de 20 años.

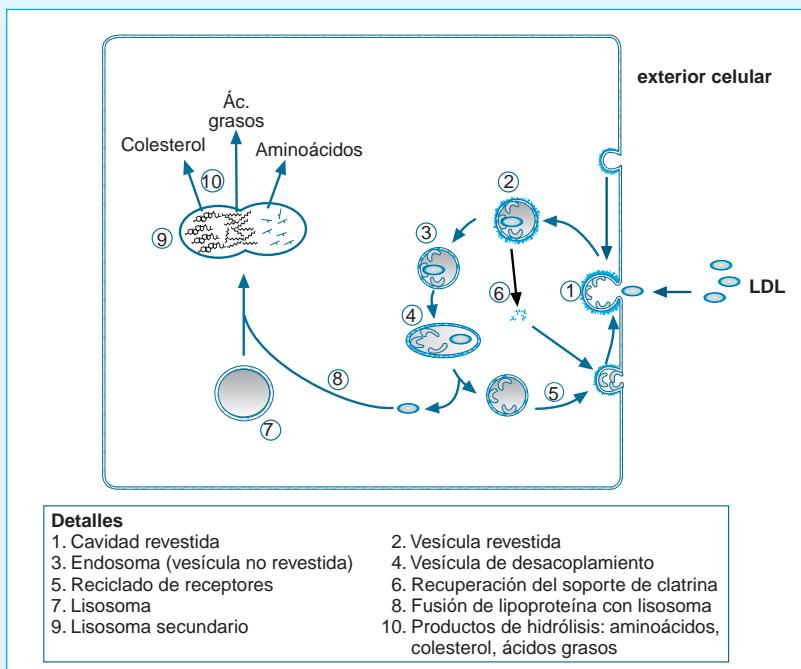


Figura 15-20. Endocitosis mediana por el receptor de LDL, en células de mamífero.

RESUMEN

- Las grasas neutras o triacilgliceroles (TAG) tienen como función principal el almacenamiento y la liberación de la energía que acumulan en tejidos especializados, como el adiposo, fundamentalmente en sus moléculas de ácidos grasos. También sirven como protección mecánica o térmica de los tejidos. Otros lípidos (fosfolípidos, esteroles, prostaglandinas, etc.) cumplen funciones diferentes, como contribuir a la estructura de las membranas biológicas.
- Debido a su carácter hidrofóbico, los lípidos que circulan por la sangre deben hacerlo inmersos en estructuras proteínicas, las lipoproteínas (Lp). Existen varias formas diferentes de Lp, clasificadas en orden de densidad, especializadas en transportar, entre el hígado y los tejidos periféricos, diferentes lípidos, como triacilgliceroles o colesterol. La variación en el nivel sérico de alguna de estas Lp, fundamentalmente de LDL, se asocia a enfermedades como la aterosclerosis.
- La regulación del equilibrio entre la movilización y la deposición de los TAG adipocíticos es hormonal. La degradación de los ácidos grasos tiene lugar en la mayoría de los tejidos de mamífero, salvo los anaerobios o el cerebro —no pueden atravesar la barrera hematoencefálica— y libera enormes cantidades de ATP, pero también de agua.
- El catabolismo de los AG se realiza, fundamentalmente, mediante el proceso denominado β -oxidación, que mayoritariamente transcurre en las mitocondrias, aunque un 30% de los AG de los mamíferos, fundamentalmente, los denominados ácidos grasos saturados de cadena muy larga, empieza el proceso en otro orgánulo, el peroxisoma.
- En condiciones de ayuno, el hígado, que se convierte en un órgano gluconeogénico, evita la saturación por las grasas que le llegan del tejido adiposo fabricando cuerpos cetónicos, compuestos de carácter lipídico, pero solubles en agua. Una vez liberados por el hígado, pueden ser captados por los tejidos periféricos, sustituyendo a los AG y a la glucosa como fuente de energía. Incluso el cerebro puede captarlos, por lo que se hace menos dependiente de la glucosa, su único combustible habitual, lo que contribuye a aumentar la supervivencia en ayunas.
- Un pequeño grupo de AG (poli)insaturados, con dobles enlaces posteriores al C-10, no pueden ser sintetizados por los tejidos de mamíferos y deben ser ingeridos; son los ácidos grasos esenciales. Los demás, la inmensa mayoría de los que un mamífero necesita, se sintetizan mediante la acción inicial de un complejo sistema multienzimático *sintasa de AG*, que fabrica ácido palmítico, y la posterior de una serie de sistemas de elongación y desaturación de cadena.
- Otros lípidos de interés para las células de mamífero, los lípidos complejos, se fabrican y catabolizan en las mismas. El catabolismo de los lípidos complejos tiene lugar en los lisosomas; por ello, personas que congénitamente carecen de alguna enzima de las implicadas en ese catabolismo sufren afecciones genéticamente conocidas como lipodosis, todas ellas caracterizadas porque afectan al desarrollo neuronal.
- El colesterol es un compuesto de enorme interés para los mamíferos; por eso, su ruta anabólica está presente en gran cantidad de tejidos, aunque el hígado es el que más lo produce. Es también el hígado el tejido en el que parte del colesterol se convierte en dos de los principales ácidos biliares, fundamentales para la digestión y, sobre todo, la absorción de los lípidos de la dieta. El catabolismo del colesterol, sin embargo, es escaso; el exceso de este compuesto se inyecta en la bilis y se almacena en la vesícula biliar, eliminándose por el intestino, en las heces.
- El mantenimiento, dentro de determinados niveles, del colesterol sérico que circula unido a la Lp es fundamental para evitar la deposición de ateromas en las paredes de los vasos sanguíneos. Ello depende de la velocidad de la síntesis y liberación a la sangre, y de la del drenaje por los tejidos periféricos. El propio colesterol en exceso retroregula su propia síntesis, y la participación de los receptores específicos para LDL resulta fundamental para tal propósito.
- Las mutaciones en los genes correspondientes a esos receptores de LDL son la causa de la hipercolesterolemia familiar. Otras personas, que no carecen congénitamente de receptores funcionales, sufren de hipercolesterolemia adquirida. Ambos tipos de hipercolesterolemia son causa de diversos y frecuentes accidentes cardiocirculatorios.

EVALUACIÓN

1. (B). Catabolismo de las grasas:

1. La oxidación total de un ácido graso a CO_2 es un proceso que consume una elevada cantidad de moléculas de agua.
2. En condiciones de abundancia energética, un mamífero tendrá desplazado el equilibrio movilización-deposición de grasas adiposas hacia la deposición.
3. Sólo los ácidos grasos saturados, de entre 16 y 20 átomos de carbono (número par) y carentes de ramificaciones, pueden descomponerse totalmente en CO_2 en tejidos de mamífero.
4. El transporte por la sangre de los ácidos liberados en la movilización de las grasas adiposas lo hace la albúmina plasmática.

a b c d e

2. (A). Depósitos grases adiposos:

- a. Un varón adulto medio occidental de 70 kg posee unos 5 kg de depósitos grases.
- b. Aunque la mayor parte de los depósitos adiposos son triacilgliceroles, un 40% de los mismos consisten en ésteres de colesterol.
- c. En las células adiposas disminuyen sus depósitos grases a medida que suben sus niveles de 3',5'-AMPcíclico.
- d. Todo lo que favorece la actividad de la enzima fosfo-diesterasa está facilitando la movilización de los depósitos grases adiposos.
- e. Nada de lo anterior es cierto.

3. (C). La β -oxidación de palmitoilCoA no produce agua metabólica PORQUE el proceso se acopla a la fosforilación de ADP a ATP que, a pH fisiológico, necesita de agua, lo que compensa la obtenida por la oxidación del NADH por el oxígeno.

a b c d e

4. (C). La relación de concentraciones en la sangre de β -hidroxibutirato/acetoacetato suele ser mayor que 1 PORQUE la β -hidroxibutirato deshidrogenasa es capaz de transformar reversiblemente el acetoacetato en β -hidroxibutirato, sin gasto directo de ATP.

a b c d e

5. (A). Biosíntesis de los ácidos grases:

- a. En la biosíntesis de los ácidos grases, el sustrato para la sintetasa es sólo la acetilCoA.
- b. La sintetasa puede interrumpirse metabólicamente al final de cada vuelta, lo que sirve para ir obteniendo ácidos grases de diferente longitud, desde 2 hasta 18 átomos de carbono.

a b c d e

c. La energía necesitada para el proceso se obtiene totalmente de la hidrólisis de la acetilCoA.

- d. La proteína transportadora de acilos saca las moléculas de acetilCoA de las mitocondrias hasta el citoplasma para su conversión en ácidos grases.
- e. La β -cetoacetyl-PTA-reductasa produce un intermedio β -hidroxiacílico.

6. (A). Biosíntesis de los ácidos grases:

- a. Los seres humanos somos capaces de sintetizar todas las clases de ácidos orgánicos presentes en nuestro organismo.
- b. La *acetilCoA carboxilasa* es una enzima básicamente mitocondrial.
- c. La *sintasa* de ácidos grases es polimérica y plurienzimática.
- d. Los grupos acilos se unen al complejo a través de un único puente tiólico existente en la *sintasa*.
- e. Las deshidrogenaciones del proceso utilizan NAD^+ .

7. (B). Biosíntesis de las grasas:

1. Sus precursores metabólicos en la dieta pueden ser hidratos de carbono, grasas o proteínas.
2. Los ácidos grases del organismo no necesitan convertirse en acilCoA antes de usarse para sintetizar grasas.
3. En el intestino, la síntesis de triacilgliceroles, de modo importante, puede hacerse con el 2-monoacilglicerol de la digestión intestinal de las grasas.
4. Tiene lugar únicamente en tejido adiposo.

a b c d e

8. (C). El único exceso de colesterol peligroso para el ser humano es el exógeno (dieta) PORQUE el que sintetizamos intracelularmente no sale de las células, por lo que no produce arteriosclerosis.

a b c d e

9. (B). El colesterol puede ser precursor metabólico de hormonas:

1. Glucocorticoides.
2. Mineralocorticoides.
3. Androgénicas.
4. Estrogénicas.

a b c d e

10. (C). Todos los ácidos biliares se eliminan por las heces, por lo que diariamente el hígado debe renovar el contenido de ellos en la bilis, PORQUE el hígado es el único tejido donde el colesterol puede convertirse en ácidos biliares.

a b c d e

EVALUACIÓN (continuación)

11. (C). Si, por cualquier razón, no se pudieran ensamblar quilomicrones en el enterocito, no se distribuirían adecuadamente los lípidos de la comida por los tejidos PORQUE los quilomicrones son el tipo de lipoproteínas de mayor tamaño y menor densidad en los mamíferos.
- a b c d e
12. (A). Hipercolesterolemia familiar:
- Esta enfermedad se debe a genes disfuncionales de los receptores de LDL, lo que provoca excesivos niveles en sangre de las LDL.
 - Son mucho más abundantes los casos de afectados homocigóticos que de heterocigóticos.
 - Una buena terapia para los heterocigóticos sería suministrarles fármacos que activasen la síntesis intracelular de colesterol.
13. (B). Metabolismo de lípidos complejos:
- En los lisosomas, los únicos lípidos complejos que se degradan son los gangliósidos.
 - Las vacuolas endocíticas son las que poseen las enzimas catabólicas de los lípidos complejos.
 - El sistema nervioso carece de lípidos complejos.
 - En los enfermos de Tay-Sachs falta totalmente el gangliósido GM₂.
- a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Gimpl G, Burger K, Fahrenholz F: A closer look at the cholesterol sensor. *TiBS* 2002; 27: 596-599.
- Lawn RM: Lipoproteína (a) en la enfermedad cardíaca. *Inv y C* 1992; agosto: 14-21.
- Lobby P: Una nueva teoría sobre la aterosclerosis. *Inv y C* julio: 15-23.
- Puerta M: El tejido adiposo pardo. *Inv y C* 1996; septiembre: 14-20.
- Ramsay RR, Naismith JH: A snapshot of carnitine acetyltransferase. *TiBS* 2003; 28: 343-346.
- Szeberényi J: The Molecular Pathomechanism of Tay-Sachs Disease. *Biochem Mol Biol Educ* 2002; 30: 197-199.
- Wallis JG, Watts JL, Browse J: Polyunsaturated fatty acid synthesis: what will they think of next? *TiBS* 2002; 27: 467-473.

16.1 GENERALIDADES

El nitrógeno gaseoso, que es muy abundante en la atmósfera, sin embargo, químicamente es casi inerte. Para convertirlo en una forma biológicamente útil, sólo unos pocos micro-

organismos (bacterias y cianobacterias) cuentan con las posibilidades metabólicas de realizar el costoso proceso energético de su conversión a amoníaco, conocido con el nombre de fijación del nitrógeno (Recuadro 16-1). Otros microorganismos y vegetales pueden captar el amoníaco y su producto

Recuadro 16-1. LA FIJACIÓN DEL NITRÓGENO

Todos los microorganismos capaces de fijar el nitrógeno lo hacen a través de un complejo enzimático *nitrogenasa*, que está formado por dos tipos de proteínas: *dinitrogenasa* y *dinitrogenasa reductasa*.

La enzima *dinitrogenasa* (240 kDa) contiene hierro y molibdeno y es un heterotetrámero formado por dos subunidades alfa y dos beta. Los equivalentes de reducción para convertir el nitrógeno en amoníaco son suministrados por NADH (o NADPH) a través de la proteína ferroazufrafa, ferredoxina, que sirve de intermedio redox. Partiendo de 4 moléculas de coenzima reducida y usando la energía de hidrólisis de alrededor de 16 ATP, con la colaboración de la otra enzima *dinitrogenasa*, se consigue la obtención de dos moléculas de amoníaco y una de gas hidrógeno. En la Figura 16-1 se resume el proceso global.

Como el oxígeno interfiere el proceso inactivando irreversiblemente a las dos enzimas participantes, los microorganismos acuden a diversas estrategias para resolver el problema. Los microorganismos anaerobios como *Clostridium pasteurianum* sólo crecen en condiciones anaerobias donde el oxígeno está ausente. En el caso de bastantes cianobacterias fijadoras de nitrógeno, como *Anabaena azollae*, la solución consiste en que el complejo *nitrogenasa* se localice en unas

células especiales llamadas heteroquistes, que poseen unas paredes celulares muy gruesas e impermeables al oxígeno.

Un comentario especial merecen las plantas, como las leguminosas soja y alfalfa cuyas raíces poseen nódulos que se infectan de microorganismos simbióticos fijadores de nitrógeno, como las diversas especies de *Rhizobium*. En este caso se sintetiza una proteína especial ligadora de oxígeno, la *leghemoglobina*, evolutivamente separada del tronco común de hemoglobina y mioglobina hace unos 800 millones de años, que captura el oxígeno e impide su actuación sobre el complejo *nitrogenasa*.

Los genes *nif* son los portadores de la información para la realización del proce-

so de fijación del nitrógeno. En *Klebsiella* suponen al menos 18 genes, y en éste y otros microorganismos se están investigando con las modernas técnicas de la Biología Molecular, con el propósito de poder usarlos y adaptarlos a otras plantas normalmente no fijadoras de nitrógeno o para mejorar el rendimiento de las fijadoras. La importancia de cualquier mejora al respecto queda ilustrada por el cálculo estimativo de que la cantidad de nitrógeno que fijan los organismos fijadores es superior a las 100 millones de toneladas anuales, mientras que los otros mecanismos fisicoquímicos de fijación (radiación ultravioleta y los procesos industriales de fabricación de fertilizantes) suponen menos de la mitad de esa cifra.

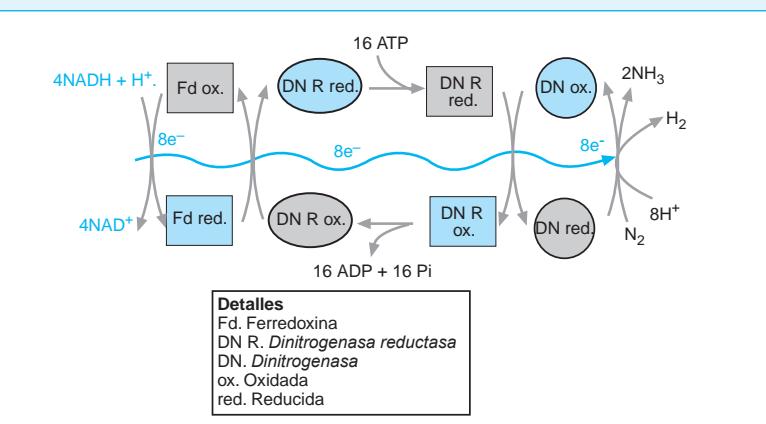


Figura 16-1. Mecanismo general de fijación del nitrógeno por los microorganismos mediante los sistemas dinitrogenasa y dinitrogenasa reductasa. Por cada molécula obtenida de amoníaco se precisa la hidrólisis de unos 8 ATP.



Figura 16-2. Economía nitrogenada diaria en el ser humano. Aproximadamente 3 moles diarios de aminoácidos han de convertirse en proteínas para compensar el proceso de proteólisis intracelular.

de oxidación, el nitrato, para sintetizar biomoléculas nitrogenadas, que serán la fuente de nitrógeno biológico adecuado que necesitan los seres superiores.

El metabolismo nitrogenado incluye proteínas y aminoácidos, así como otros muchos compuestos importantes que se pueden considerar derivados de los aminoácidos: bases purínicas y pirimidínicas (constituyentes de los nucleótidos, las coenzimas y los ácidos nucleicos), hemo y moléculas relacionadas (hemoglobina, citocromos, porfirinas), poliaminas, creatina, diversos neurotransmisores y hormonas, pigmentos melánicos, entre otros. El esqueleto carbonado aminoacídico puede servir de punto de partida, dependiendo de las vías particulares de cada caso, en la obtención de ácidos grasos, grasas y esteroides o como inicio gluconeogénico, ayudando, en este supuesto, al aporte necesario de glucosa al cerebro en condiciones en que las existencias del hidrato de carbono sean insuficientes. Además de ese papel precursor que tienen los aminoácidos, su catabolismo oxidativo es esencial para proporcionar la energía que precisa el organismo en situaciones de necesidad energética como puede ser el ayuno.

En la Figura 16-2 se resumen de un modo cuantitativo las transformaciones más importantes del metabolismo nitrogenado en el ser humano. En este capítulo se tratará concreta-

mente el catabolismo proteico intracelular (la digestión extracelular de las proteínas se incluyó en el Cap. 11), así como el metabolismo general de los aminoácidos y algunas moléculas relacionadas, mientras que la biosíntesis proteica se analizará en el Capítulo 21 y el metabolismo del grupo hemo se abordará en el Capítulo 30.

16.2 DEGRADACIÓN INTRACELULAR DE LAS PROTEÍNAS

Ya en 1960, Schinke concluyó que *las proteínas se renuevan más deprisa de lo que vive la célula*. En otras palabras, que existe una renovación proteica intracelular, estableciéndose un equilibrio dinámico de biosíntesis/degradación cuantificable en unos 5 g diarios de proteínas por kg de peso, lo que supone que unos 3 moles de aminoácidos se incorporan en forma de proteínas. Desde el punto de vista energético se necesita la energía de la hidrólisis de unos 18 moles de ATP, cuya recuperación supondría aproximadamente un 20% de la energía correspondiente a un metabolismo basal medio normal (véase el Cap. 11).

El papel fisiológico del catabolismo proteico intracelular es múltiple: contrarresta la acumulación de proteínas anormales, potencialmente dañinas; lucha contra el envejecimiento celular; colabora con el aporte energético en situaciones metabólicas especiales (ayuno, situación hipocalórica) e, incluso, la proteólisis puede constituir un eficaz sistema para controlar la cantidad de proteínas relevantes biológicamente, favoreciendo la regulación independiente de sus respectivas velocidades de síntesis y degradación. Entre los procesos biológicos regulados por mecanismos de proteólisis intracelular se encuentran los siguientes: ciclo celular, metabolismo del colesterol, organogénesis, procesado de antígenos, respuestas inflamatorias, ritmos circadianos, supresión tumoral y transcripción genética.

Para catalizar la degradación existen en casi todos los tejidos unas *proteasas* intracelulares, semejantes en su acción a las digestivas, tratadas en el Capítulo 11, que están asociadas a diversas estructuras celulares, como la cromatina, los peroxisomas, las mitocondrias, el retículo endoplásmico y las membranas plasmáticas, aunque suelen abundar más en los orgánulos especializados en la digestión intracelular, los lisosomas. Éstos son vesículas intracelulares de tamaño variable, acídicas (pH en torno a 5), dotadas de diferentes clases de enzimas de degradación específicas para los distintos tipos de biomacromoléculas, entre ellas, un amplio abanico de *exopeptidasas* y, sobre todo, de *endopeptidasas*, y entre éstas, las *catepsinas D, B, L y H*, con especificidades características individuales. Los lisosomas no sólo degradan proteínas o biomoléculas intracelulares, sino que, al ser orgánulos en los que

suele culminar el periplo de las vacuolas endocíticas, también hidrolizan las proteínas capturadas en procesos de ese tipo, de origen extracelular. También existe un catabolismo proteolítico intracelular, pero extralisosomal, con muchos sistemas

conocidos, bastantes de ellos dependientes energéticamente de ATP. Tiene una relevancia especial uno en el que participan la proteína señalizadora ubiquitina y el complejo proteolítico proteasoma 26S (Recuadro 16-2).

Recuadro 16-2. EL PROTEASOMA 26S

La vía ubiquitina-proteasoma cataliza la mayor parte de los procesos de degradación de las proteínas en los que no intervienen los lisosomas. En este complejo se incluyen dos componentes con funciones totalmente distintas: la ubiquitina, cuya misión es señalar las proteínas que deben ser degradadas y el proteasoma 26S (valor de su coeficiente de sedimentación) que es el complejo proteínico que realmente realiza la misión degradativa.

Para que la proteólisis se pueda llevar a cabo por el proteasoma 26S, es condición indispensable la existencia de una señal de degradación en la proteína objeto de la proteólisis. Para ello, es necesario el concurso de la ubiquitina, que es un polipéptido presente en el citoplasma y en el núcleo celular (con funciones estructurales que se asocian a las histonas) con 76 residuos de aminoácidos, de 8.6 kDa, muy conservado, que se une covalentemente a las proteínas a señalizar, mediante un sistema multienzimático de tres proteínas: E1 (activación de ubiquitina), E2 (conjugación de ubiquitina) y E3 (unión de ubiquitina), tal como se indica en la Figura 16-3. La ubiquitinación consiste en la repetición de una reacción en cascada E1-E2-E3. El proceso de ubiquitinación se halla dotado de cierta reversibilidad y se han encontrado diversas enzimas con actividad *desubiquitinasa*. La unión entre la ubiquitina y la proteína elegida se lleva a cabo a través de un enlace isopeptídico, entre el carboxilo terminal de la ubiquitina y grupos ε-amino lisínicos de la proteína, lo que da lugar a una proteína de estructura ramificada. Previamente, la ubiquitina debe ser activada usando la energía de la hidrólisis de ATP hasta AMP y pirofósфato. La ubiquitina también posee otras funciones facilitadoras

de la proteólisis intracelular, ya que favorece el paso de las proteínas destruibles hacia las vacuolas lisosómicas.

Los complejos *proteasomas* son complicadas maquinarias proteolíticas celulares especializadas en la proteólisis. Están compuestos de una porción catalítica central cilíndrica, *abarrillada*, y dos extremos reguladores, con una masa molecular de unos 2100 kDa.

La porción central *proteasa 20S* tiene un peso molecular de 700-750 kDa y se halla compuesta de 28 subunidades proteicas, codificadas por 14

genes en las células eucarióticas, dispuestas en una forma apilada de cuatro anillos. El proteasoma 20S, por sí mismo, es poco funcional y solamente es capaz de degradar péptidos de pequeñas dimensiones, con bastante lentitud y algunos grandes, cuando éstos se encuentran muy desnaturalizados. Las proteínas sustratos de este tipo de enzimas denominadas *abarrilladas*, para ser transformadas, han de estar previamente desplegadas o desnaturalizadas y entrar en su interior a través de una especie de canales o poros adecuados.

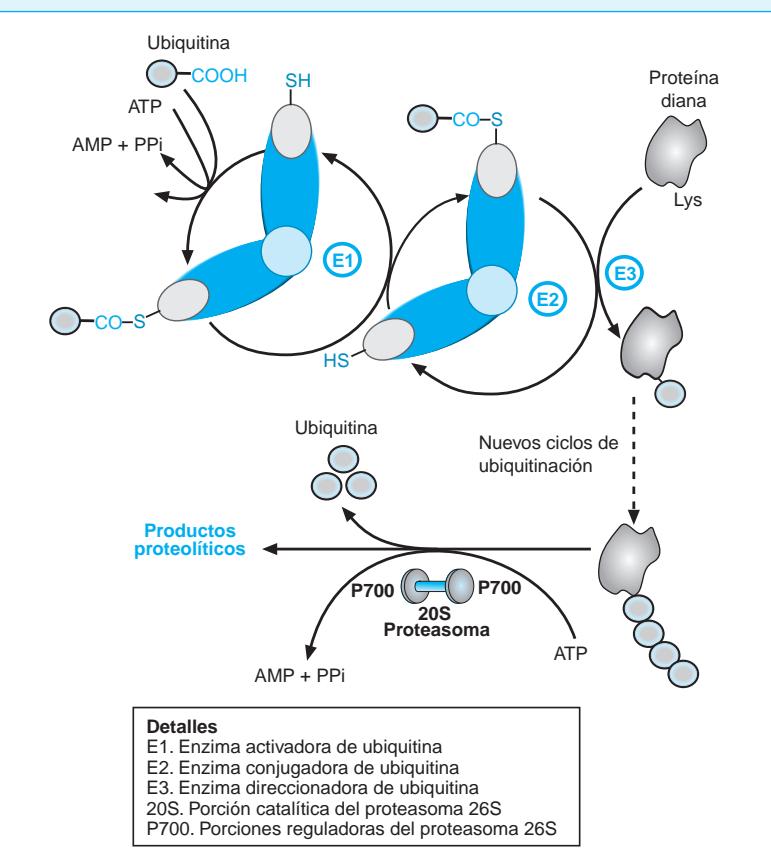


Figura 16-3. Esquema de funcionamiento del sistema ubiquitina-proteasoma 26S. Las porciones reguladoras del proteasoma 26S localizan y despliegan las proteínas diana. A continuación, se polinbiquitinan mediante las enzimas E1-E2-E3, consumiendo ATP. Finalmente, se realiza la proteólisis, nuevamente consumiendo ATP.

En los extremos finales del proteasoma 20S cilíndrico se suelen asentar los importantes complejos regulatorios PA700, 19S, para formar un complejo proteasoma 26S, en forma de pesa. Otra alternativa posible es la de los complejos reguladores PA28, dando lugar a una estructura con forma de balón de fútbol. El complejo regulador PA700, de 700 kDa, consiste en una serie de subunidades heterogéneas integrables en dos subgrupos: a) al menos, 6 ATPasas que constituyen una familia única multigénica que codifica polipéptidos homólogos muy conservados durante la evolución, y b) unas 15 proteínas no ATPasas, poco relacionadas estructuralmente entre sí. Entre sus notables funciones destacan la de hacer depender la proteólisis del ATP, la de desplegar (acción chaperona) a las proteínas diana, la de reconocer selectivamente a las proteínas poliubiquitinadas y la de retirar y/o desensamblar la cadena de poliubiquitina.

del sustrato de la proteína. El PA700 purificado funciona como una ATPasa.

El sistema ubiquitinación/desubiquitinación, además de poseer otras funciones, trabaja como marcador específico y lector de pruebas de los sustratos degradados por el proteasoma 26S. Después de ser marcados los sustratos por la ubiquitina, el proteasoma 26S los reconoce y a continuación, los degrada hasta convertirlos en péptidos. Además, el proteasoma 26S posee la capacidad de reconocer y degradar otras proteínas que no han sufrido la acción de la ubiquitina, lo que demuestra la existencia de múltiples vías en las que intervienen la ubiquitina o el proteasoma. Debido a ello, pueden interferir o cooperar con otros mecanismos proteolíticos.

Además de PA700 y PA28 existen otras proteínas que regulan la actividad del proteasoma 20S como, el PI31, la HSP90 y la proteína β -amiloide. En todo caso, el proteasoma 26S es el

único complejo de proteasas capaz de degradar las proteínas ubiquitinadas, desempeñando varias funciones biológicas. Entre ellas, la del control de algunos aspectos del ciclo celular, su metabolismo y el procesamiento de la información genética, lo que lleva a cabo con la colaboración de varias enzimas proteolíticas. También interviene en la respuesta al estrés, degradando las proteínas anómalas originadas por el mismo, o en el sistema inmunitario, generando antígenos peptídicos. Parece evidente que la prevención de la acumulación en células estresadas o envejecidas de las proteínas oxidadas o desnaturadas, incapaces de recuperarse tras el ataque de los radicales libres, constituye una de las funciones más importantes del mecanismo proteolítico del proteasoma de los mamíferos, complementario de la actuación de las enzimas antioxidantes contra los radicales libres (véase el Cap. 13).

La proteólisis intracelular es un proceso bastante regulado, lo que da lugar a *tiempos de vida media* ($t_{1/2}$) muy variables para las diversas proteínas, que van desde unos pocos minutos (p. ej., la ornitina descarboxilasa hepática, involucrada en la biosíntesis de poliaminas) hasta varios meses (como el citocromo c de la cadena respiratoria). En general, tienden a acortar los $t_{1/2}$ circunstancias como los despliegamientos espaciales de la molécula y la desnaturización, o el mayor tamaño molecular de la proteína, mientras que incrementan el $t_{1/2}$ un mayor *punto isoeléctrico* de la molécula o su estabilización mediante sustratos, coenzimas o ligandos diversos. Otra peculiaridad es que casi todas las proteínas de vida corta poseen una o más secuencias prolina (P), glutamato (E), serina (S) y treonina (T), conocidas como secuencias PEST, que pueden constituir un marcador proteico degradativo.

Asimismo, la velocidad de degradación de las proteínas citosólicas depende, en gran medida, de la naturaleza del residuo aminoacídico presente en el extremo amino terminal de la proteína. Son residuos muy desestabilizadores ($t_{1/2}$ de pocos minutos) los de leucina, isoleucina, fenilalanina, tiroxina, triptófano, arginina, lisina e histidina. También lo son, tras sufrir modificaciones químicas, los de glutamato, glutamina, aspartato y asparragina. Por el contrario, son muy estabi-

bilizantes ($t_{1/2}$ de días) los de glicina, alanina, cisteína, valina, serina, metionina, prolina y serina.

Desde el punto de vista hormonal, la degradación aumenta con altos niveles de T₃, con los glucocorticoides y el glucagón, o una elevada ingestión de proteínas, mientras que la insulina, hormona anabólica, actúa de modo opuesto.

En todo caso, la degradación intracelular de las proteínas conduce a la liberación de sus aminoácidos componentes, que pueden volver a utilizarse en una resíntesis proteica, catabolizarse totalmente o transformarse en precursores glucconeogénicos, para producir glucosa, o cetogénicos, mediante acetilCoA.

16.3 DESTINO DEL NITRÓGENO AMÍNICO

El metabolismo de cualquier aminoácido suele iniciarse con su desaminación, es decir, la pérdida de su nitrógeno amónico. Esto puede ocurrir de varias formas (Fig. 16-4):

1. Por medio de las transaminasas o *aminotransferasas*, cuyo grupo prostético es el *fosfato de piridoxal* (vitamina B₆), se cataliza un equilibrio (cuya constante posee un valor próximo a uno) en el que el grupo

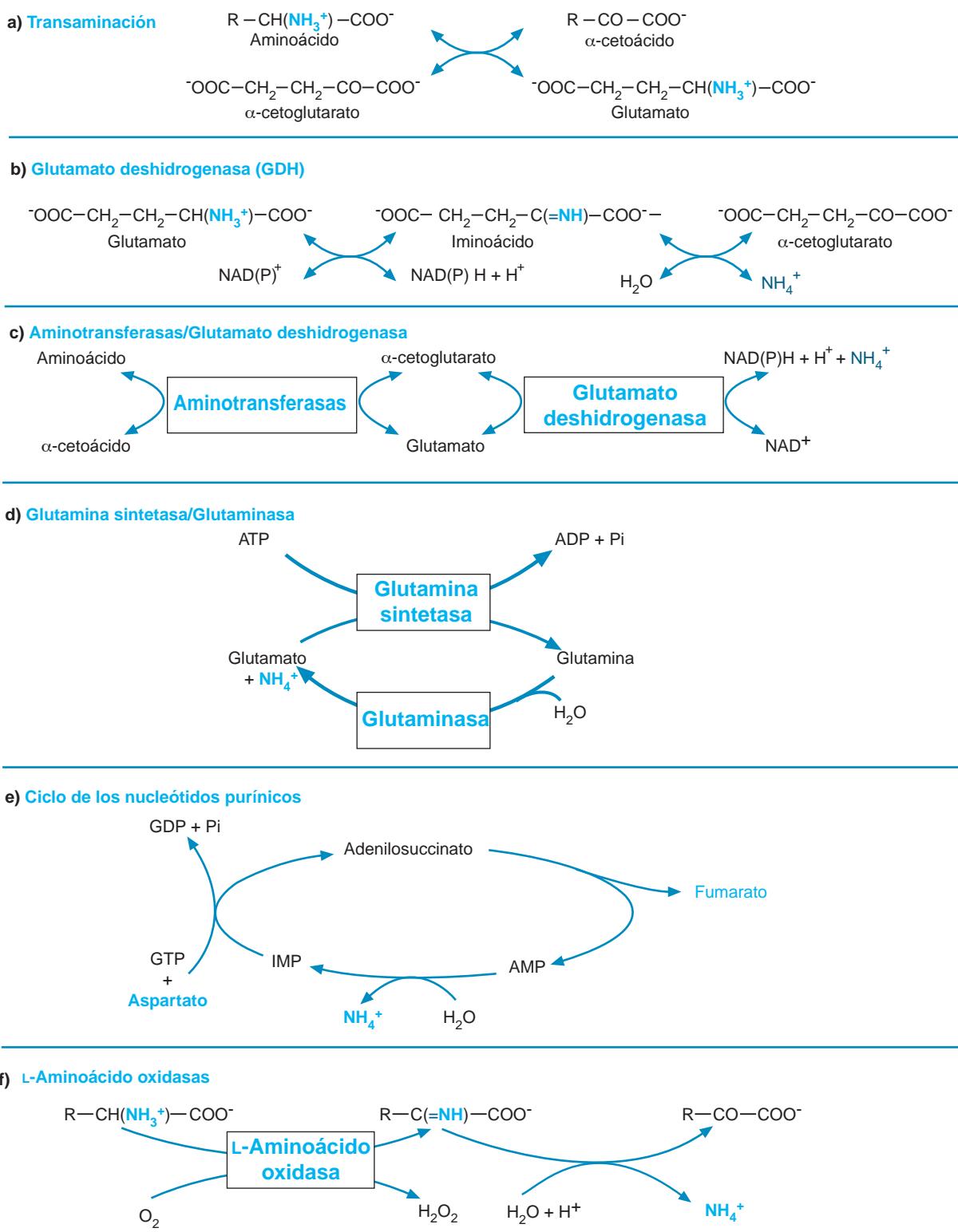


Figura 16-4. Diversos sistemas de liberación o intercambio, o ambos, de nitrógeno amónico en los aminoácidos.

- α -amínico de un aminoácido se transfiere a un α -cetoácido, dando lugar, respectivamente, al α -cetoácido y α -aminoácido correspondientes (Fig. 16-4a). Existen decenas de *aminotransferasas* conocidas. Cualquier aminoácido puede ser un donador potencial de grupos amínicos, y en teoría cualquier α -cetoácido podría ser receptor. Sin embargo, muchas *aminotransferasas* funcionan con la pareja receptora α -cetoglutarato/glutamato; con menos frecuencia participa en tal actividad la pareja oxalacetato/aspartato, y aún más raramente la piruvato/alanina o la glioxilato/alanina. De las aminotransferasas más abundantes en tejidos animales, siempre operando con la pareja receptora α -cetoglutarato/glutamato, destacan la *glutamato/oxalacetato transaminasa* (GOT), mejor denominada *aspartato aminotransferasa* (AsT), y la *glutamato/piruvato transaminasa* (GPT), alternativamente llamada *alanina aminotransferasa* (ALT). En cualquier caso, los niveles de aminotransferasas están regulados tanto hormonalmente como por la dieta y su interés es también clínico, puesto que es bien conocido que sus concentraciones en suero se emplean como indicadores diagnósticos de enfermedades cardíacas, como el infarto, o hepáticas, como la hepatitis. Son, pues, ejemplo de *marcadores*, cuya presencia en el suero en concentraciones anormalmente elevadas indica la existencia de una lesión en los tejidos de procedencia, que ha provocado su paso masivo a la sangre.
2. Otro sistema de gran importancia en el metabolismo del nitrógeno amínico es el de la desaminación oxidativa, efectuada por una *aminoácido deshidrogenasa*. Ello se realiza principalmente mediante la enzima *glutamato deshidrogenasa* (Fig. 16-4b), oligomérica, regulada, entre otros, por un lado, por ATP y NADH (inhibidores) y, por otro, por ADP y NAD⁺ (activadores). Cataliza la transformación reversible del glutamato hasta α -cetoglutarato a través de un intermedio iminoácido, con el concurso de NAD(P)⁺.
 3. Mediante la acción combinada de la *glutamato deshidrogenasa* con la correspondiente y previa *aminotransferasa* (Fig. 16-4c), cualquier aminoácido se convierte en el oportuno cetoácido y sus nitrógenos amínicos aparecen como amoníaco (iones amonio en disolución).
 4. La regulación del nitrógeno amínico también tiene lugar a través de la conversión de glutamato a glutamina, catalizada por la *glutamina sintetasa* (oficialmente se recomienda el uso del nombre *glutamato-amonio ligasa*), o la recíproca, de glutamina a glutamato, catalizada por la *glutaminasa* (Fig. 16-4d), siendo ambas enzimas muy regulables.

5. A través del ciclo de los nucleótidos purínicos (Fig. 16-4e), principalmente operativo en el músculo y el cerebro, los grupos amínicos procedentes de los aminoácidos se liberan mediante un mecanismo en el que participa el nucleótido purínico AMP, que es desaminado hasta IMP (ácido inosínico).
6. Existen asimismo otras vías de producción de amoníaco a partir de aminoácidos: la acción de L-aminoácido oxidases (Fig. 16-4f) o de aminoácido deshidratetasas sobre aminoácidos alcohólicos, o la rotura de la glicina; también se produce amoníaco a partir de otros metabolitos, como la adenosina o la adenina (mediante desaminasas), o como la urea, con ureasas bacterianas intestinales.

El amoníaco es un producto muy tóxico para todos los tejidos de los mamíferos, especialmente para el sistema nervioso. Cada día, procedente del catabolismo proteico, hemos de eliminar aproximadamente un mol de amoníaco, que si se acumulase en nuestro organismo, alcanzaría una concentración unas 300 veces superior a la máxima admisible de 50 μM , por encima de la cual comienzan a expresarse sus efectos tóxicos, con trastornos en el sistema nervioso central, como visión confusa, torpeza en la expresión oral y otros síntomas, pudiendo llegar al coma y la muerte del paciente. Las distintas especies de organismos han resuelto el problema de la eliminación nitrogenada de modo diferente, según su hábitat. Los organismos amoniotélicos, como muchos microorganismos y peces, vierten el amoníaco como tal al medio externo; los uricotélicos, como los reptiles, lo convierten en ácido úrico; los mamíferos superiores, como el ser humano, somos ureotélicos, fabricando urea, que eliminamos por la orina.

En el ser humano y muchos organismos superiores, para evitar la acumulación tóxica del amoníaco, existen mecanismos previos de respuesta, consistentes en que en órganos y tejidos como el músculo, el riñón, el intestino y el cerebro captan inmediatamente el amoníaco que se produce por cualquiera de los procedimientos previamente mencionados para que no se acumule libre, por una de las siguientes vías (Fig. 16-5):

1. Glutamato, transformándose en glutamina, mediante *glutamina sintetasa*.
2. α -cetoglutarato, que pasa a glutamato, merced a la inversa *glutamato deshidrogenasa*. El glutamato vuelve nuevamente a α -cetoglutarato por la acción de *aminotransferasas*, que simultáneamente convierten el piruvato en alanina o el oxalacetato, en aspartato. Así pues, en estos órganos y tejidos se produce una desaparición de glutamato, piruvato y oxalacetato, y una

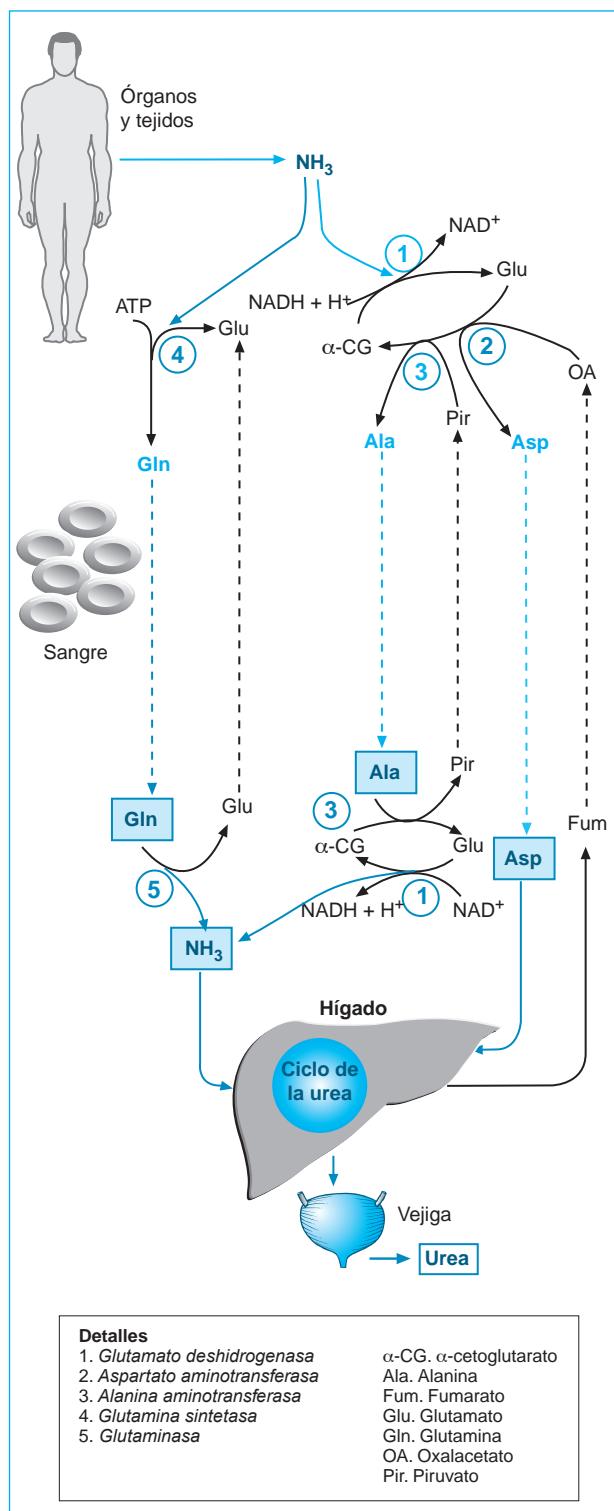


Figura 16-5. Disposición del amoníaco en órganos y tejidos, donde es captado por glutamato, oxalacetato y piruvato, que se convierten, respectivamente, en glutamina, aspartato y alanina, que por vía sanguínea alcanzan el hígado y lo ceden al ciclo de la urea.

producción de glutamina, aspartato y alanina, que son transportados por la sangre hasta el hígado. Allí, el aspartato puede entrar directamente en el *ciclo de la urea*, de donde saldrá como fumarato, y la alanina y glutamina retornan a sus formas iniciales tisulares de piruvato y glutamato, cediendo el amoníaco al ciclo de la urea. Para cerrar todo el proceso, el fumarato, mediante los sistemas enzimáticos relacionados con el ciclo del citrato ya expuestos en el Capítulo 13, puede reconvertirse a la forma original tisular de oxalacetato.

16.4 CICLO DE LA UREA

Los seres ureotélicos, como el ser humano, eliminan el nitrógeno amónico de los aminoácidos en forma de urea, por la orina, de modo que el nitrógeno ureico, en condiciones normales, representa el 80% del nitrógeno total excretado. La formación de la urea se realiza en el denominado *ciclo de la urea*, merced a un conjunto de enzimas que actúan coordinadamente y que suelen estar presentes, muchas de ellas, en la mayor parte de los tejidos de los mamíferos, aunque el ciclo suele funcionar globalmente como tal, principalmente en el hígado (Fig. 16-6).

La síntesis de la urea se inicia con la actuación de una enzima mitocondrial, la *fosfato de carbamoilo sintetasa I* (CPSI), que condensa NH_4^+ y HCO_3^- (dióxido de carbono; bicarbonato) para formar el fosfato de carbamoilo, mediante el gasto de la energía de hidrólisis de dos ATP. La denominación CPSI distingue esta enzima de otra isoenzima citoplasmática, la *fosfato de carbamoilo sintetasa II*, CPSII, que cataliza la misma reacción, pero con glutamina como donadora amínica, en lugar del amonio. Además, el fosfato de carbamoilo sintetizado en el citoplasma se utiliza específicamente en la biosíntesis de las pirimidinas, como veremos más adelante.

El paso siguiente consiste en la transferencia del fosfato de carbamoilo hasta el grupo amínico lateral del aminoácido no proteínico *ornitina*, para dar lugar a otro aminoácido, la *citrulina*, también no proteínico, mediante la enzima mitocondrial *ornitina carbamoilo transferasa u ornitina transcarbamilasa*. Hasta aquí, el proceso transcurre en el interior de la mitocondria, pero la citrulina puede abandonar ésta gracias a un transportador específico ubicado en la membrana interna mitocondrial. En esta situación, se incorpora el que será el segundo grupo amínico de los dos que forman la urea. El donador directo del mismo es el *aspartato*, que se condensa con el grupo carbonilo de la citrulina, lo que hace necesaria la participación de un enlace rico en energía de hidrólisis, en un proceso catalizado por la enzima *arginosuccinato sintasa*, generando el compuesto *argino-*

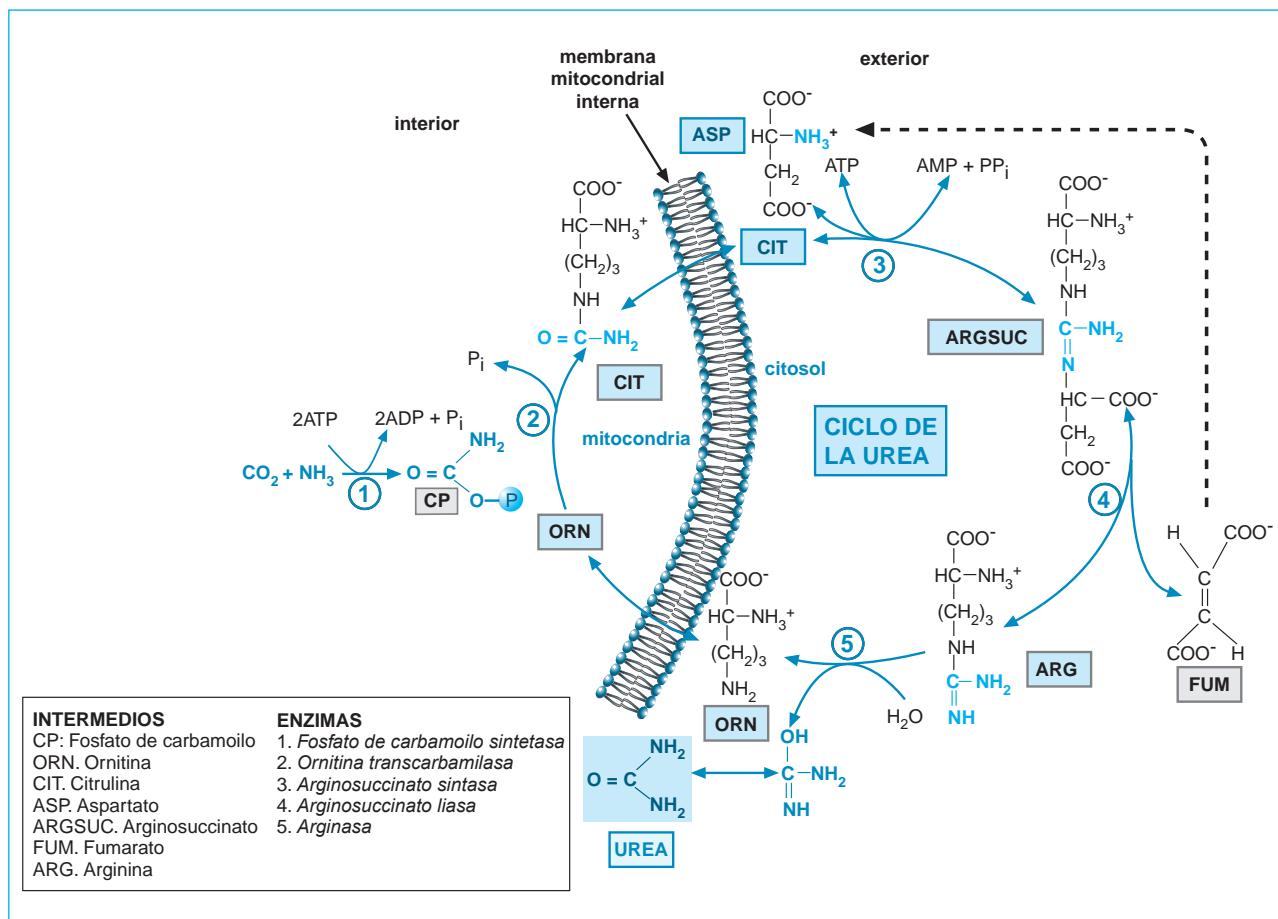


Figura 16-6. Ciclo de la urea. Dos de las enzimas, fosfato de carbamoilo sintetasa y ornitina transcarbamiloasa, son mitocondriales y algunos pasos son suficientemente exergónicos para que el proceso tenga lugar en el sentido del giro de las agujas del reloj.

succinato, que es escindido inmediatamente por la acción de la enzima *arginosuccinato liasa*, liberándose fumarato y formándose el aminoácido directamente precursor de la urea, la *arginina*. En muchos seres vivos el proceso finaliza aquí, por lo que la vía es un ejemplo típico biosintético del aminoácido arginina.

De hecho, en los seres humanos, en tejidos en los que no se completa el ciclo de la urea, la ruta puede servir para sintetizar arginina. Sin embargo, en los seres ureotélicos, como los seres humanos, el ciclo suele concluir con la acción de una última enzima, la *arginasa*, que de modo irreversible escinde la arginina en urea y ornitina, con lo que este último aminoácido, de nuevo penetra en la mitocondria y puede reiniciar el proceso cíclico, cuya estequiometría global sería:



Teniendo en cuenta la Figura 16-6, a la hora del balance del ciclo de la urea, es interesante subrayar que el átomo de nitrógeno de la urea procedente del fosfato de carbamoilo se puede derivar de cualquier aminoácido que se desamine en los tejidos y órganos. Respecto al segundo átomo de nitrógeno aportado por el aspartato, su cetoácido correspondiente, el oxalaceto, se puede recuperar del fumarato que sale del ciclo de la urea, vía malato, gracias a las enzimas descritas en el Capítulo 13, *fumarasa* y *malato deshidrogenasa*, con lo que se obtendría un NADH. En todo caso, tal como se indicaba anteriormente, el ciclo de la urea es un proceso oneroso para los organismos ureotélicos, con el consumo de cuatro ATP por cada urea eliminada, aunque si consideramos la reconversión del fumarato en oxalaceto, el coste energético queda anulado merced a la capacidad energética de los dos NADH producidos, en la desaminación oxidativa de los correspondientes aminoácidos dadores de los dos átomos de nitrógeno.

16.4.1 Regulación del ciclo de la urea

No cabe duda de que un proceso de tanta repercusión para el buen funcionamiento del metabolismo nitrogenado tiene que estar convenientemente regulado. De hecho, así es, en dos niveles diferentes. A largo plazo, el control, por regulación genética, se ejerce sobre las concentraciones de las enzimas que intervienen. Si se ingieren dietas ricas en proteínas, las enzimas del ciclo se incrementan y, consecuentemente, se fabrica bastante urea; si las dietas son pobres, ocurre todo lo contrario. Hay, pues, una relación directa entre los niveles de proteínas en la dieta, la síntesis de las enzimas del ciclo de la urea, la fabricación de este producto y su excreción renal en la orina.

En la regulación a corto plazo, no varía la cantidad de las enzimas del ciclo, sino que se activan (o inactivan, según el caso), fundamentalmente la que abre la ruta, la *CPS I*, cuya velocidad regula la del proceso en su conjunto. Conviene destacar su activación alóstérica ejercida por un metabolito, *N-acetil-glutamato*, que no participa en el ciclo de la urea pero que, con su presencia, regula su actividad. Dicho metabolito resulta de la actuación de una enzima mitocondrial, *N-acetil-glutamato sintetasa*, que cataliza su síntesis. La enzima necesita, para ser activa de la presencia de niveles altos de arginina, lo que implica que la síntesis en las mitocondrias de fosfato de carbamoilo, vital para la puesta en marcha del ciclo de la urea, depende de las concentraciones mitocondriales de glutamato y arginina, cuyos niveles altos señalan a la célula la presencia de un exceso de aminoácidos en la misma y, por tanto, la necesidad de eliminar el NH_4^+ que su catabolismo está produciendo.

Los estudios evolutivos abonan la idea de que el ciclo de la urea apareció como una reconversión necesaria de la ruta biosintética de la arginina, en respuesta a la necesidad que hubo, en un momento evolutivo dado, de eliminar los altos niveles de NH_4^+ y HCO_3^- producidos como consecuencia de la degradación proteínica; el ciclo, como puede deducirse, constituye además una vía indirecta de regulación del equilibrio ácido-base y del mantenimiento del pH corporal, lo que también es importantísimo para los mamíferos.

16.4.2 Alteraciones del ciclo

Ni que decir tiene que si por cualquier razón el ciclo de la urea no funciona correctamente, habrá una inevitable *hiperamonemia*, acompañada de otros problemas eventuales, como *citrulinemia*, *aciduria arginosuccínica*, *hiperarginemia*, entre otros, según la o las enzimas que fallen. Los individuos congénitamente afectados por cualquiera de estas deficiencias mueren en las primeras semanas de vida o, en los casos más leves, manifiestan un retraso mental durante

su existencia, como consecuencia de los altos niveles de amoníaco y de su grave repercusión en el desarrollo cerebral, fundamental al comienzo de la vida. Si estas enfermedades se detectan precozmente sus efectos pueden paliarse mediante la adopción de dietas especiales, bajas en proteínas, y con el uso de fármacos que disminuyan el nivel de amoníaco. También puede haber problemas si la carencia congénita es de una enzima, la *N-acetil-glutamato sintetasa*, que no participa en el ciclo, pero que es fundamental en la regulación, a corto plazo, del mismo. Su deficiencia también conduce a una *hiperamonemia*, y el tratamiento más adecuado es, tras su diagnóstico precoz, suministrar al afectado fármacos que aportan moléculas parecidas al *N-acetil-glutamato*.

16.5 DESTINO GENERAL DEL ESQUELETO CARBONADO DE LOS AMINOÁCIDOS

El catabolismo de los esqueletos carbonados de los aminoácidos se realiza en cada caso particular mediante cadenas de reacciones más o menos específicas que desembocan en moléculas participantes del ciclo del citrato o del metabolismo intermedio (piruvato, acetilCoA). Como se representa en la Figura 16-7 y teniendo en cuenta el carácter gluconeogénico de los intermedios del ciclo del citrato (véase el Cap. 13), los aminoácidos cuyo producto final único es un intermedio del ciclo o el piruvato se consideran *aminoácidos gluconeogénicos*, mientras que la leucina y la lisina, al generar en su degradación únicamente acetilCoA, se clasifican como *aminoácidos cetogénicos*. El resto de los aminoácidos son *mixtos*, ya que junto a un precursor gluconeogénico también conducen a acetilCoA.

Las características cinéticas de las *aminotransferasas*, primeras enzimas de su metabolismo, hacen necesarias concentraciones relativamente altas de los aminoácidos para su adecuado procesamiento. Por tanto, el catabolismo está regulado en buena parte por la concentración intracelular de cada aminoácido, de modo que, a pesar de su teórico carácter gluconeogénico, se ha demostrado para algunos de ellos que, en concentraciones normales o ligeramente superiores a las normales, no incrementan realmente la gluconeogénesis hepática. En todo caso, los mejores precursores gluconeogénicos son la alanina y la serina. En concreto, la gluconeogénesis que se produce a partir de la alanina tiene un extraordinario interés en fases avanzadas de ayuno, en las que el hígado se convierte fundamentalmente en un órgano gluconeogénico para fabricar glucosa, para el consumo cerebral a partir de la alanina procedente de las células musculares, donde se origina en un proceso de reconversión a partir de aminoácidos ramificados.

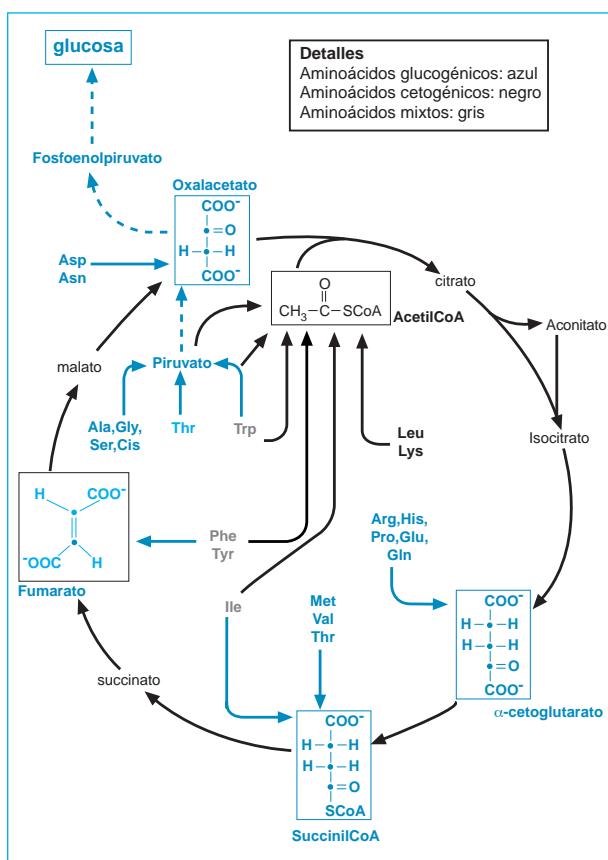


Figura 16-7. Destino catabólico de los esqueletos carbonados de los aminoácidos, relacionándolos con algunos metabolitos del ciclo del citrato.

16.6 FAMILIAS CATABÓLICAS DE AMINOÁCIDOS. AMINOACIDOPATÍAS

En el metabolismo y, sobre todo, en el catabolismo de algunos aminoácidos, puede darse un mal funcionamiento o una carencia del gen codificador de una enzima participante, lo que provoca un bloqueo metabólico con consecuencias variadas: *a*) acumulación de metabolitos situados con anterioridad al punto de bloqueo; *b*) intensificación de rutas metabólicas alternativas para poder transformar o eliminar los metabolitos infrecuentes acumulados; *c*) déficit de los metabolitos que usualmente deberían estar presentes tras el lugar en el que se produce el bloqueo. Los efectos de todo ello son de muy variada importancia, pero es frecuente que estas *metabolopatías*, *enzimopatías* o *aminoacidopatías* produzcan diversas alteraciones neurológicas en las etapas de maduración, poco protegidas, del sistema nervioso, así como alteraciones funcionales de gravedad variable, incluso mortales. Algunas de estas aminoacidopatías serán citadas en el contexto de una breve exposición general del catabolismo de los aminoácidos, clasificados por familias y destinos catabólicos.

16.6.1 α-cetoglutarato o familia C₅

La llamada *familia de aminoácidos C₅*, cuyo destino final es el α-cetoglutarato, la constituyen la prolina, la histidina, la arginina, la glutamina y el glutamato. En la Figura 16-8 se esquematizan sus principales transformaciones, en las que desempeña un papel esencial el intermedio metabólico semialdehído glutámico.

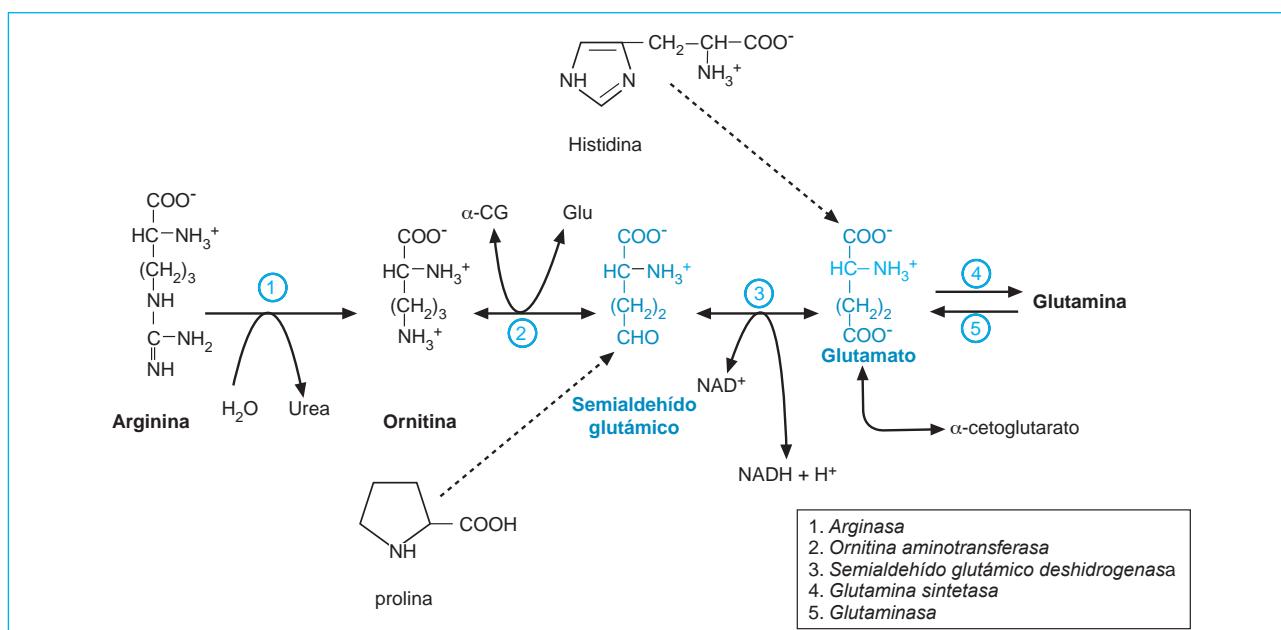


Figura 16-8. Familia catabólica de los aminoácidos C₅. El semialdehído glutámico juega un importante papel de intermedio.

16.6.2 SuccinilCoA y aminoácidos ramificados

El succinato es el lugar parcial del destino catabólico de los aminoácidos ramificados. El catabolismo de valina, isoleucina y leucina presenta un interés especial (Figura 16-9). Tras la transaminación de cada uno de ellos, actúa una α -cetoácido deshidrogenasa de cadena ramificada, de características semejantes a otros complejos α -cetoácido deshidrogenasas que ya se han analizado previamente (*piruvato deshidrogenasa, α -cetoglutarato deshidrogenasa*). Siguiendo el esquema general de la β -oxidación de los ácidos grasos, con algunas particularidades individuales, tras la actuación, en su caso, de las *tiolasas* correspondientes, el producto catabólico de la valina es el propionilCoA, los de la isoleucina son acetilCoA y propionilCoA, y los de la leucina, acetilCoA y acetoacetylCoA, lo que justifica su respectivo carácter gluconeogénico, mixto y cetogénico. Hemos de recordar que la propionilCoA también era un producto final del catabolismo de los ácidos grasos de número impar de átomos de carbono, existiendo una vía para su conversión hasta succinilCoA.

Para ello, se produce una carboxilación catalizada por la *propionilCoA carboxilasa*, enzima de biotina catalíticamente parecida a *piruvato carboxilasa*. La D-metilmalonilCoA producida se racemiza a su forma L, que es el sustrato para la enzima *L-malonilCoA mutasa*, que da lugar a la formación de succinilCoA. Como coenzima se necesita desoxiadenosilcobalamina, un derivado de la vitamina B₁₂ en el que un átomo de cobalto está unido al carbono 5' de la desoxiadenosina (véase el Cap. 9).

Se han identificado diversas anomalías hereditarias del metabolismo de la metilmalonilCoA, que suelen manifestarse como acidosis en el primer año de vida. Aproximadamente, la mitad de estos pacientes con aciduria metilmalonírica mejora con la administración de cobalamina, ya que en ellos existe un defecto en la transferasa que cataliza la síntesis de la desoxiadenosilcobalamina, a partir de sus componentes.

Se conocen otras diversas enfermedades hereditarias ligadas al catabolismo de los aminoácidos ramificados. Entre

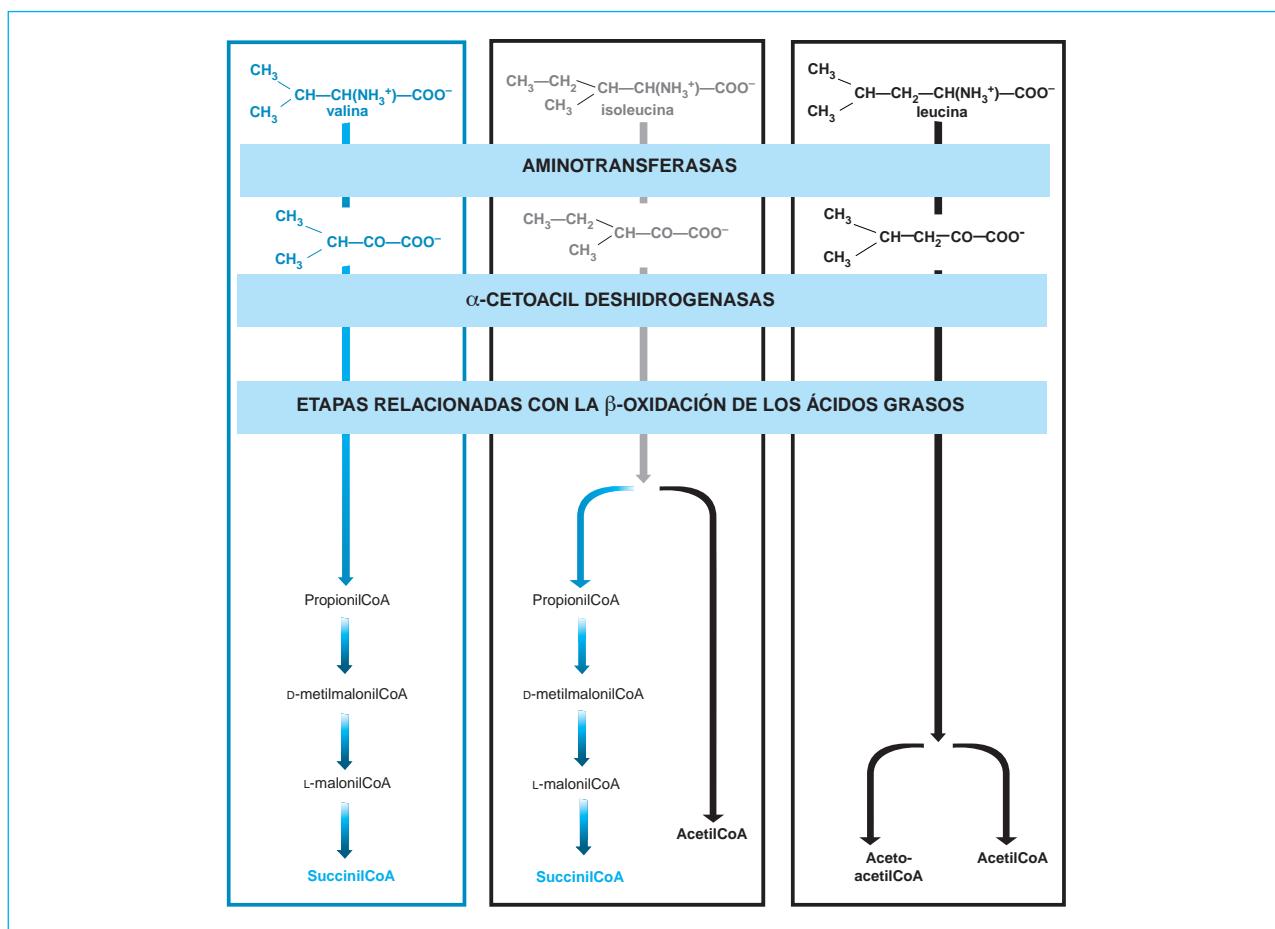


Figura 16-9. Catabolismo de los aminoácidos ramificados. En azul, el camino gluconeogénico (valina); en negro, el cetogénico (leucina), mientras que isoleucina posee caminos mixtos.

ellas destaca la de la *orina con olor a jarabe de arce* o, simplemente *enfermedad del jarabe de arce*, autosómica recesiva, con diversos síntomas graves que se manifiestan tempranamente en los neonatos, con daño intelectual y neurológico. El fallo radica en la actividad de las α -cetoácidos deshidrogenasas. El tratamiento incluye dietas con muy escasa cantidad de aminoácidos ramificados.

16.6.3 Aminoácidos azufrados

El aminoácido metionina también puede convertirse en succinato, y su metabolismo (Fig. 16-10) está muy relacionado con el de otros aminoácidos azufrados (homocisteína, cistationina, cisteína). Comienza con su transformación en *S*-adenosil-metionina (SAM), que es el principal intermediario metabólico existente dador de grupos metilo, en reacciones catalizadas por *metiltransferasas* específicas que, junto a la metilación oportuna, producen homocisteína. Este aminoácido, junto a la serina, en dos reacciones consecutivas se convierte en cisteína (glucogénica, pues su destino final es piruvato, como se verá más adelante) y en homoserina, transformable consecu-

tivamente a α -cetobutirato, propionilCoA y succinato (glucogénico). Las aminoacidopatías *homocistinuria* y *cistationuria* se relacionan, respectivamente, con déficit de las enzimas *cistationina sintasa* y *cistationina liasa*.

Hacia los años setenta del pasado siglo, un médico patólogo, el Dr. McCully, observó que los niños que sufrían homocistinuria, además de una alta concentración sanguínea de homocisteína, presentaban una gran formación de placas ateromatosas en sus arterias. Desde entonces se han acumulado las pruebas de la relación entre homocisteína y riesgos de enfermedades cardiovasculares. Como las vitaminas del complejo B (vitamina B₆, vitamina B₁₂) y, sobre todo, ácido fólico, facilitan el catabolismo de la homocisteína se ha ensayado, con éxito, la eficacia del uso de complementos dietéticos de folato para bajar la homocisteinemia, aparte de su ya conocida recomendación a las mujeres embarazadas para prevenir en sus descendientes la espina bífida y otros defectos.

La participación del folato en la transformación de la homocisteína en metionina es sólo un ejemplo del denominado metabolismo de las fracciones monocarbonadas, del que se ofrece un esquema global en el Recuadro 16-3.

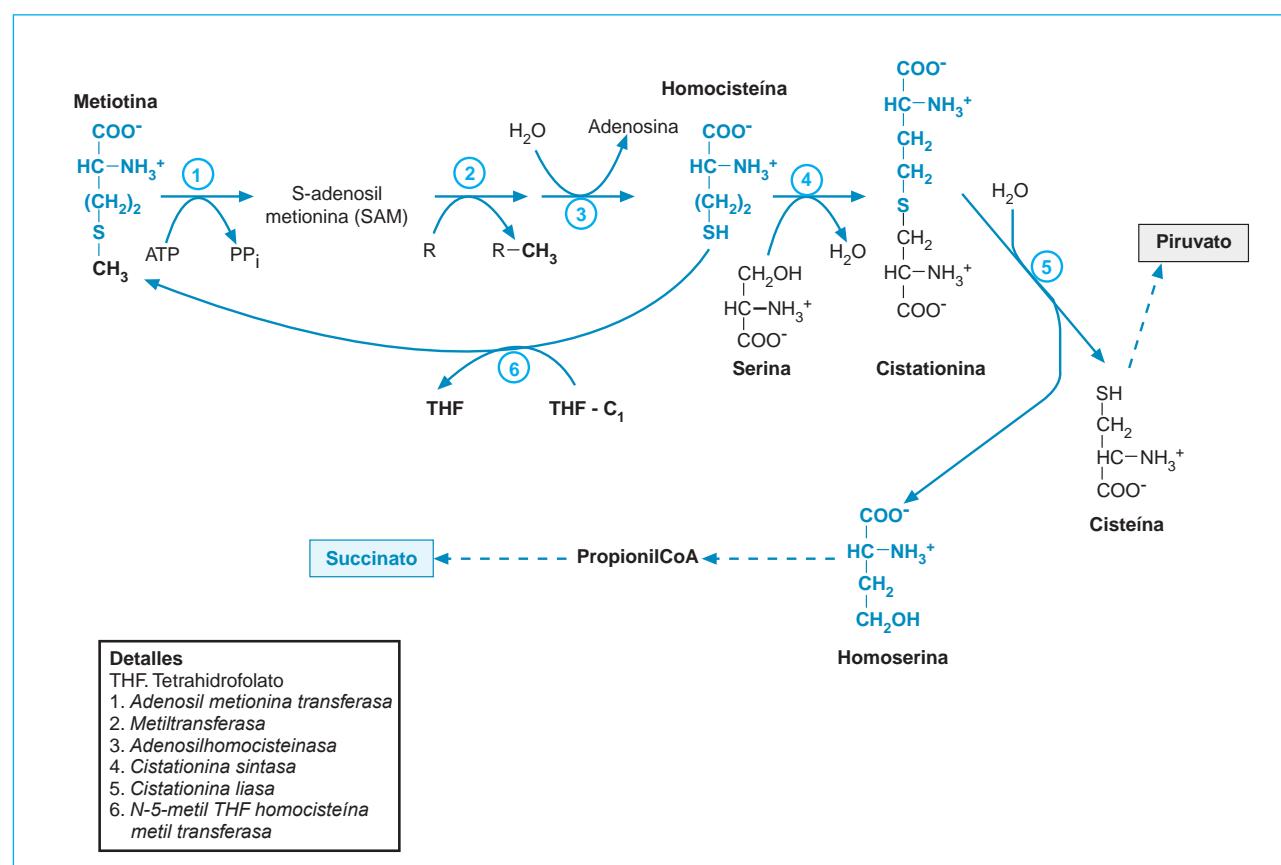


Figura 16-10. Catabolismo de los aminoácidos azufrados. Para la transformación de homocisteína en metionina, o en homoserina, las enzimas correspondientes son dependientes de las vitaminas del tipo B y de folato.

Recuadro 16-3.
METABOLISMO DE LAS FRACCIONES MONOCARBONADAS

A parte de la transferencia de grupos metilo mediada por la S-adenosilmetionina, el traspaso, la liberación o la adquisición de porciones monocarbonadas son procesos metabólicos muy usuales e importantes. En buena parte de ellos media el *tetrahidrofolato* (THF) o sus derivados. Este portador, cuyo nombre más correcto sería el de tetrahidropterol-glutamato, se forma de tres porciones: la pteridina sustituida, el *p*-aminobenzoato y el glutamato.

El ser humano y los demás mamíferos pueden sintetizar la pteridina, pero no unirla al resto de los constituyentes. Por ello, el tetrahidrofolato es un metabolito esencial, adquirido por la dieta o de los microorganismos del tracto gastrointestinal. Los fragmentos monocarbonados suelen unirse a través de los átomos de nitrógeno en posición 5 ó 10, y su estado de oxidación puede ser diferente: reducido en el caso de grupos metilo, $-\text{CH}_3$; intermedio en el de grupos metileno, $-\text{CH}_2-$; y oxidado, en el de grupos formilo, $-\text{CHO}$, formimino, $-\text{CHNH}$, o metenilo, $-\text{CH}=$. Algunos de estos derivados monocarbonados del tetrahidrofolato intervienen en alguna etapa biosintética de las purinas, de la pirimidina timina, o de la glicina, así como en el catabolismo, entre otros, de serina, glicina, histidina, betaina y colina (Fig. 16-11).

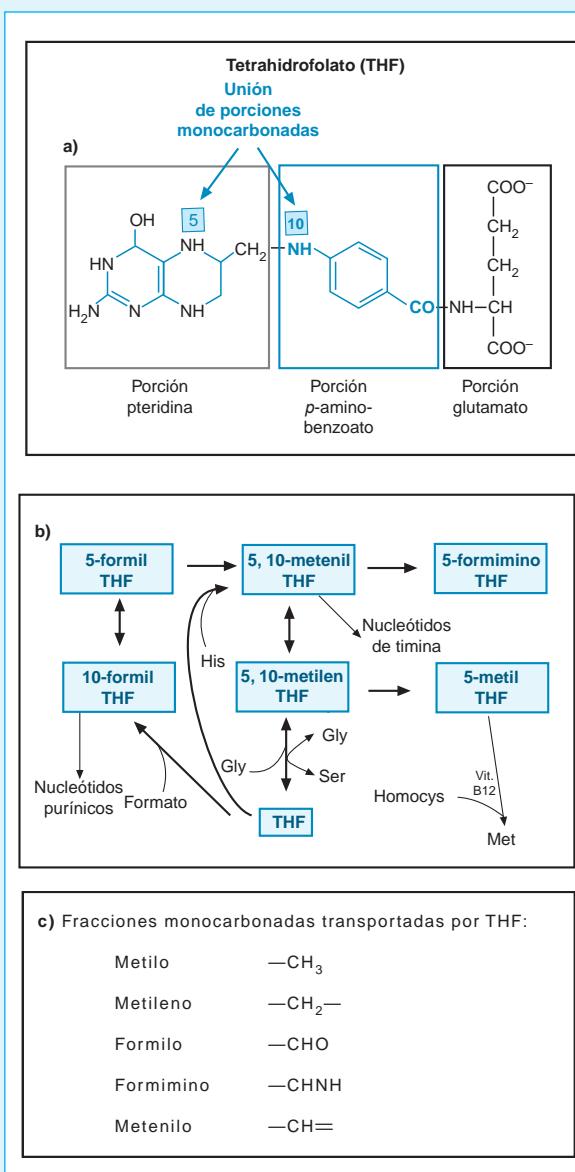


Figura 16-11. Metabolismo de las fracciones monocarbonadas.

- Molécula de tetrahidrofolato con sus componentes;
- Principales intercambios de fracciones monocarbonadas ligadas a THF;
- Diversos tipos de fragmentos monocarbonados unibles al THF.

16.6.4 Fumarato

El fumarato, como producto catabólico, es el responsable del carácter parcialmente glucogénico de los aminoácidos aromáticos fenilalanina y tirosina. El esquema de la Figura 16-12 destaca algunas de las enzimas participantes y las afecciones asociadas a su inadecuado funcionamiento. Una de las *hiperfenilalaninemias* posibles, la I, se conoce también como *fenilketonuria* (metabolitos fenilcetonómicos anormales en la orina) o como *oligofrenia fenilpirúvica* (por sus efectos de degradación mental y la naturaleza de los metabolitos acumulados).

En este caso concreto, el defecto se sitúa en la *fenilalanina hidroxilasa*, enzima dependiente de la *tetrahidropterina*, codificada por un gen autosómico recesivo, alterado de forma importante en un 2% de la población y siendo homocigotos respecto al mismo aproximadamente uno de cada 10 000 nacidos. En la orina y sangre de los afectados, se acumulan desde su nacimiento metabolitos anormales de fenilalanina que, por sí mismos o por mecanismos más complejos, interfieren en el desarrollo normal del sistema nervioso, aparte de producir otras alteraciones fenotípicas.

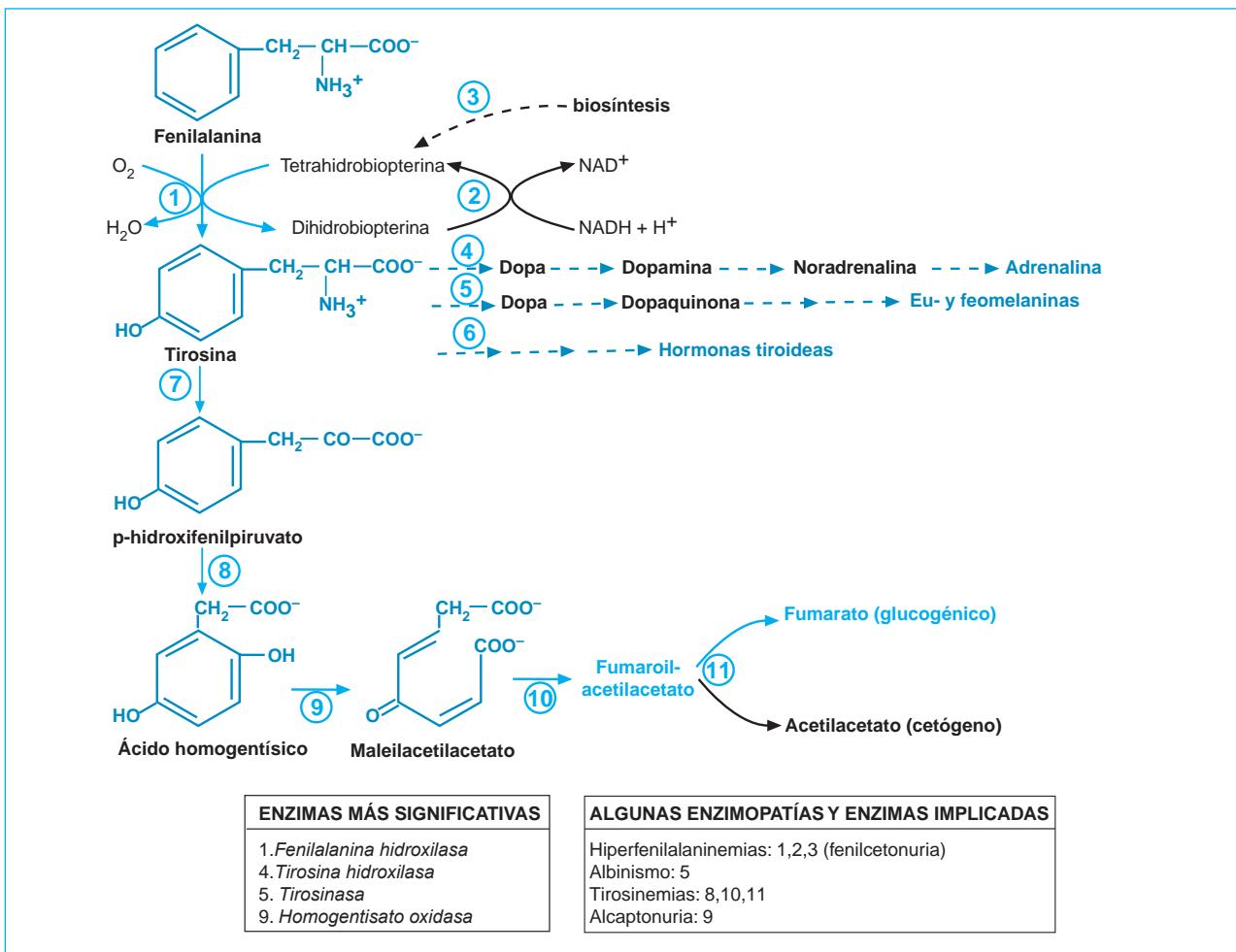


Figura 16-12. Catabolismo de los aminoácidos aromáticos fenilalanina y tirosina, y algunas aminoacidopatías asociadas. Obsérvese el papel de la tirosina como punto de partida de diversas rutas metabólicas.

El tratamiento dietético del neonato, con una alimentación controlada muy pobre en fenilalanina y con la adecuada cantidad de tirosina, produce buenos resultados en los pacientes descubiertos con ocasión de los programas masivos de detección de metabolopatías en recién nacidos que vienen realizándose en muchos países. La aplicación de las técnicas de la moderna biología molecular permite disponer en bastantes casos de sondas específicas genéticas, que facilitan la determinación de un buen número de estas aminoacidopatías en poblaciones de riesgo, pero, sobre todo, posibilita el diagnóstico prenatal de las muestras obtenidas por amniocentesis, y permite proporcionar una información cualificada sobre el riesgo de la anomalía estudiada en futuros embarazos.

En cuanto al otro aminoácido aromático, el triptófano, ya se ha comentado que la descarboxilación de su 5-hidroxiderivado da lugar al neurotransmisor *serotonina*. Su catabolismo comienza con la acción de una *dioxigenasa*, la *triptófano*

2,3 dioxigenasa (denominada, normalmente, también como *triptófano pirrolasa*). La porción tricarbonada aminocarbóxilica se convierte en alanina (glucogénica), mientras que la estructura antranílica restante puede sufrir diversas modificaciones. Una pequeña cantidad del triptófano, un 2%, puede transformarse en nicotinato, una forma de la vitamina niacina, precursora del NADH. Aparte de la alanina, el resto de la molécula de triptófano puede dar lugar a glutarilCoA, cuya transformación descarboxilativa conduce a acetoacetilCoA (cetógeno). La glutarilCoA es también, al menos en algunos sistemas, producto del complejo catabolismo del aminoácido lisina, que parece poseer otras alternativas poco conocidas, alguna de ellas, incluso, glucogénica.

16.6.5 Piruvato

Los aminoácidos alanina, serina, glicina, treonina y cisteína podrían constituir la familia del piruvato (Fig. 16-13). La trans-

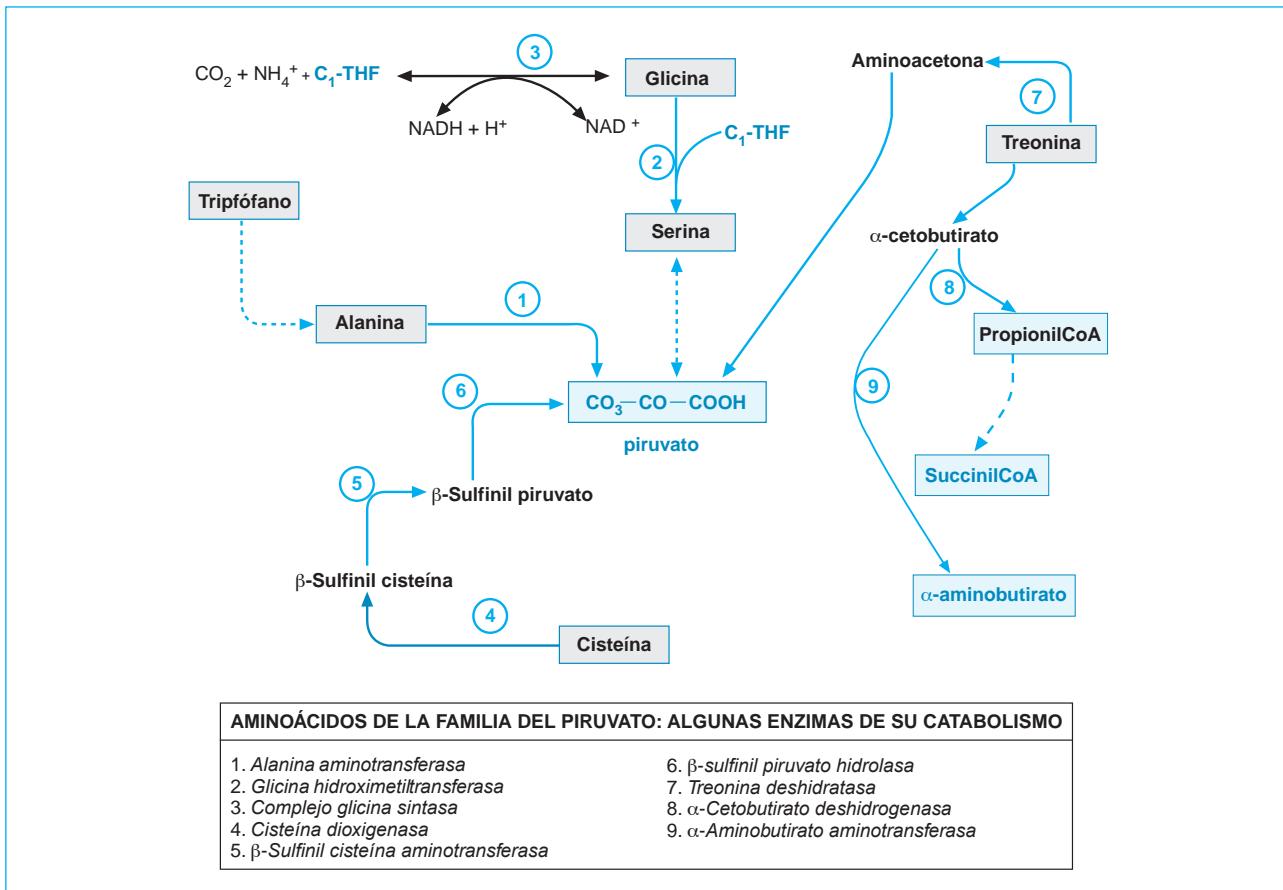


Figura 16-13. Catabolismo de los aminoácidos relacionados con piruvato e interrelaciones entre los mismos.

minación de la alanina origina directamente piruvato. Un complejo originalmente conocido como *glicina sintasa*, en el que participan las enzimas *aminometiltransferasa* y *glicina deshidrogenasa descarboxilante* cataliza la ruptura catabólica de la glicina. El fallo de estas enzimas es la causa de la *hiperglicinemia no cetósica*, una grave aminoacidopatía, en la cual la concentración de glicina en el líquido cefalorraquídeo puede superar en 100 veces los valores normales. Otra posibilidad metabólica de la glicina es su transformación en serina, cuya transformación en piruvato cataliza la enzima *serina deshidratasa*. Se necesitan tres etapas para convertir la cisteína en piruvato, comenzando por su oxidación, mediante una *dioxigenasa*, a la forma de sulfinato de cisteína. En cuanto a la treonina, sus posibilidades metabólicas son variadas, y la que conduce a piruvato podría estar mediada por el metabolito aminoacetona.

16.6.6 Otros destinos

Los aminoácidos también pueden ceder parte de sus esqueletos para sintetizar algunos productos nitrogenados de gran

interés biológico. Así, pueden ser precursores, como veremos más adelante, de *bases purínicas* y *pirimidínicas*, de ciertas *coenzimas*, de *componentes estructurales*, del grupo *hemo* y de *porfirinas* (véase el Cap. 30), y de numerosos *neurotransmisores* y *hormonas*.

En concreto, la descarboxilación de los aminoácidos o de sus derivados da lugar a importantes biomoléculas. La *histamina*, sustancia de gran potencia vasodilatadora involucrada en los fenómenos de alergia, procede de la descarboxilación de la histidina (Fig. 16-14), mientras que la *serotoninina*, otro frecuente neurotransmisor, proviene de la descarboxilación del 5-hidroxitriptófano, y las *catecolaminas* (dopamina, adrenalina y noradrenalina) derivan de la tirosina. La descarboxilación de los aminoácidos diamínicos ornitina y lisina produce las poliaminas *putrescina* y *cadaverina*, respectivamente, siendo la putrescina el punto de partida de la obtención de las también poliaminas *espermidina* y *espermina*. Estas poliaminas son importantes moduladores celulares.

16.7 CATABOLISMO DE LOS AMINOÁCIDOS EN ÓRGANOS Y TEJIDOS

En contra de lo que se creyó durante algún tiempo, el hígado no es el lugar casi exclusivo del catabolismo de los aminoácidos. La situación es más compleja y se puede resumir en los siguientes puntos:

- Efectivamente, el hígado es el órgano más importante en el catabolismo de los aminoácidos, pues regula el de la mayor parte de ellos (75-80%), incluyendo casi todos los esenciales, con excepción de los ramificados. Como consecuencia de ello, aparte de la urea obtenida casi exclusivamente en el hígado, existe una producción neta, exportable a la sangre, de glucosa y de glutamato, así como un gran consumo de alanina, procedente del músculo esquelético.
- En el músculo esquelético se metabolizan principalmente los aminoácidos ramificados, existiendo un consumo neto de glucosa y glutamato y exportándose a la sangre glutamina y alanina. En el tejido adiposo ocurre lo mismo, pero en menor cuantía.

- En el intestino, con células que poseen una alta velocidad de división, existe una gran necesidad de nitrógeno y de aminoácidos, como el aspartato precursor de los nucleótidos. Globalmente, tiene lugar un consumo de aspartato, aspárragina, glutamato y glutamina, y se producen alanina y amoníaco que pasa al hígado por vía portal.
- En el riñón, el equilibrio glutamato/glutamina es de gran utilidad para la regulación del pH urinario. En el cerebro, si no cuantitativamente, sí tienen gran interés cualitativo las actuaciones de las descarboxilasas y otras enzimas que, a partir de los aminoácidos, producen neurotransmisores, como el ácido γ -aminobutírico (GABA), la dopamina, la noradrenalina, la adrenalina y la serotonina (Fig. 16-14).

16.8 BIOSÍNTESIS DE LOS AMINOÁCIDOS. AMINOÁCIDOS ESENCIALES

Tal como se indicaba al comienzo de este capítulo, en una persona sana existe un recambio diario de proteínas, síntesis

EJEMPLOS:

Aminoácido	R	Amina
Aspartato	—CH ₂ —COO [—]	β -Alanina
Glutamato	—CH ₂ —CH ₂ —COO [—]	GABA (Ác. γ -aminobutírico)
Histidina		Histamina
5-hidroxitriptófano		Serotonina (5-hidroxitriptamina)
L-dopa		Dopamina → Noradrenalina → Adrenalina
Lisina	—CH ₂ —CH ₂ —CH ₂ —CH ₂ —NH ₃ ⁺	Cadaverina
Ornิตina	—CH ₂ —CH ₂ —CH ₂ —NH ₃ ⁺	Putrescina → Espermidina → Espermina
Arginina	—CH ₂ —CH ₂ —CH ₂ —CH ₂ —NH ₃ ⁺	Agmatina
Serina	—CH ₂ —OH	Etanolamina
Cisteína	—CH ₂ —SH	Cisteamina

Detalles

1. L-Aminoácidos descarboxilasas

Figura 16-14. Descarboxilaciones de interés biológico en los aminoácidos, catalizadas por las correspondientes L-aminoácidos descarboxilasas. Buena parte de ellas pueden transcurrir en el cerebro para la obtención de neurotransmisores.

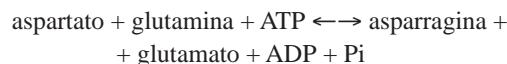
y catabolismo, de unos 300 g. Una parte de los aminoácidos necesarios para la síntesis proteica (aproximadamente, un 75%) se recupera de los obtenidos en el catabolismo proteico, pero el resto debe ser suministrado por la dieta o se sintetiza en nuestras células. Aproximadamente, la mitad de los aminoácidos proteínicos no es sintetizable (carecemos de los genes y enzimas precisos) en nuestro organismo o su síntesis es insuficiente. Por ello, deben tomarse en los alimentos, por lo que reciben el nombre de aminoácidos esenciales, que en los adultos son: la fenilalanina, el triptófano, la valina, la isoleucina, la leucina, la lisina, la metionina y la treonina. A ellos es normal sumar, durante el período de la infancia, la arginina y la histidina, e incluso la tirosina y la cisteína en niños prematuros con sistemas enzimáticos aún inmaduros.

Atendiendo a la naturaleza de sus precursores respectivos, la biosíntesis de los aminoácidos puede agruparse en familias biosintéticas (Fig. 16-15). Como es lógico, dada la existencia generalizada de aminotransferasas, no será esencial ninguno de los aminoácidos cuyos cetoácidos están normalmente disponibles metabólicamente: piruvato → alanina, oxalacetato → aspartato y α -cetoglutarato → glutamato.

Del resto de los aminoácidos no esenciales, la serina se obtiene a partir del intermedio glicolítico 3-fosfoglicerato y luego, puede convertirse en glicina tras la pérdida de un

grupo monocarbonado metileno, tal como ya se ha visto en este capítulo.

La síntesis de glutamina ya se ha contemplado con anterioridad. En cuanto a la asparragina, su formación tiene lugar en casi todas las células animales, mediante una ligasa que cataliza:



Esta ligasa falta en las células leucémicas, que tienen necesidad de un gran suministro de asparragina para sus procesos biosintéticos, por lo que la toman de la sangre. Por ello, una de las terapias antileucémicas se basa en la incorporación de *asparraginasa* a la sangre de los pacientes leucémicos, a fin de dificultar ese suministro y, con ello, la multiplicación celular.

En cuanto a la tirosina, normalmente no se considera un aminoácido esencial, pero como ya se ha expuesto anteriormente se obtiene de la fenilalanina, que sí es esencial, por lo que la tirosina se convierte en esencial si la dieta no posee suficiente aporte de fenilalanina o si se carece de la enzima *fenilalanina hidroxilasa*, dependiente de la tetrahidrobiopterrina.

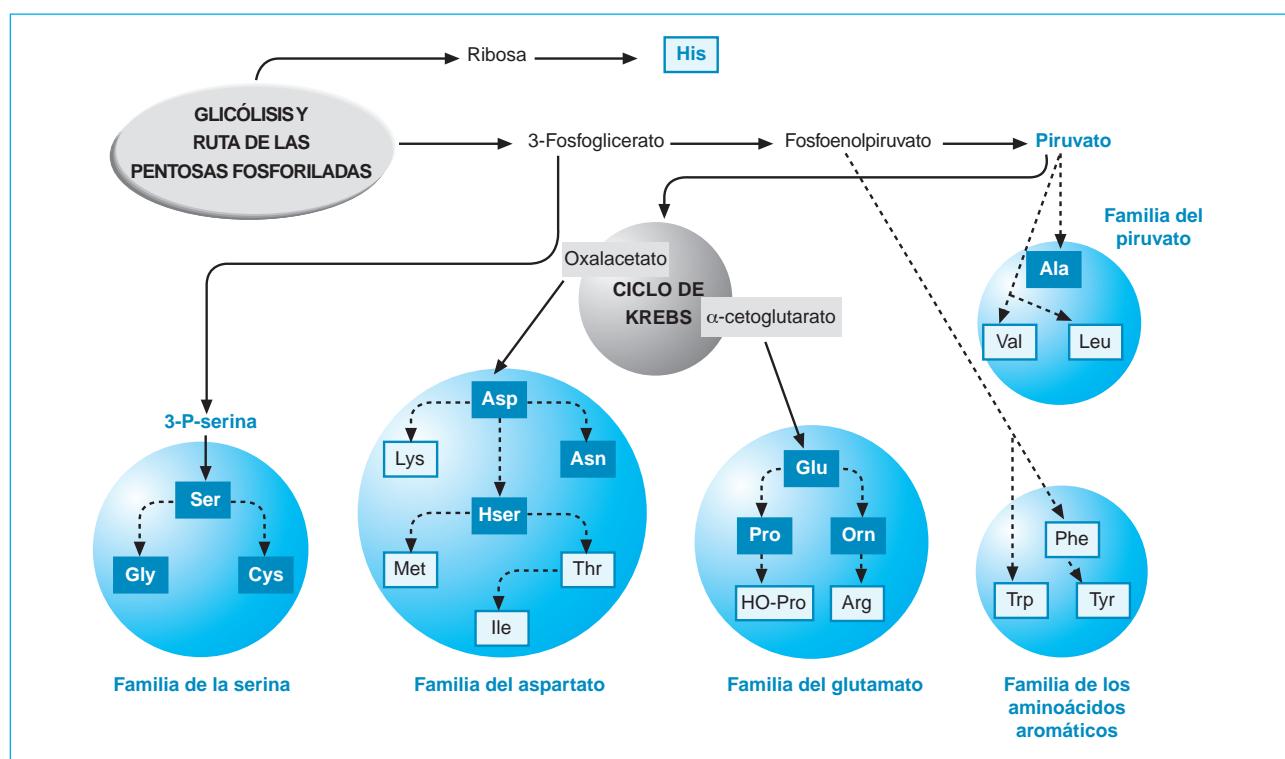


Figura 16-15. Familias biosintéticas de aminoácidos. En los seres humanos, aproximadamente, la mitad son esenciales, no se pueden biosintetizar (en la ilustración, los de fondo azul claro).

16.9 DERIVADOS PURÍNICOS Y PIRIMIDÍNICOS

Las bases nitrogenadas de importancia fisiológica presentan grupos amino o ceto, o ambos, en diferentes posiciones de los ciclos purínico y pirimidínico. Las cinco principales son: *adenina* (*A*), *guanina* (*G*), *citosina* (*C*), *uracilo* (*U*) y *timina* (*T*). Las dos primeras son derivadas de la purina y las tres últimas, de la pirimidina. Las bases libres existen en concentración muy baja, y se unen a un azúcar para formar un *nucleósido*. La unión de la base y el azúcar se produce por un enlace β -N-glicosídico, con participación del nitrógeno 1 (en una pirimidina) o del 9 (en una purina), y el carbono anómérico del azúcar (véase el Cap. 5).

Como podemos observar en la Figura 16-16, el núcleo purínico consta de dos heterociclos unidos entre sí, con un total de 9 átomos. Las dos bases purínicas presentes más a menudo en los ácidos nucleicos son la *adenina* (6-aminopurina) y la *guanina* (2-amino-6-hidroxipurina), siendo de interés, asimismo, la *hipoxantina* (6-hidroxipurina) y la *xantina* (2,6-dihidroxipurina). Aunque, en algunos casos las moléculas presentan *tautomería ceto-enólica*, con gran importancia funcional (véase el Cap. 8), en este capítulo, para simplificar las fórmulas, las representaremos siempre en forma enólica, aunque esta variedad sea fisiológicamente muy minoritaria. También, con objeto de simplificar, se esquematizará la estructura purínica en forma de un cuadrado vacío (bases), o con una línea horizontal (nucleósidos), o con dos líneas horizontales (nucleótidos).

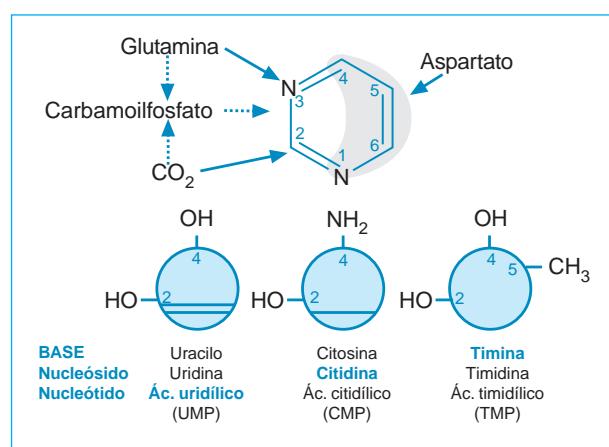
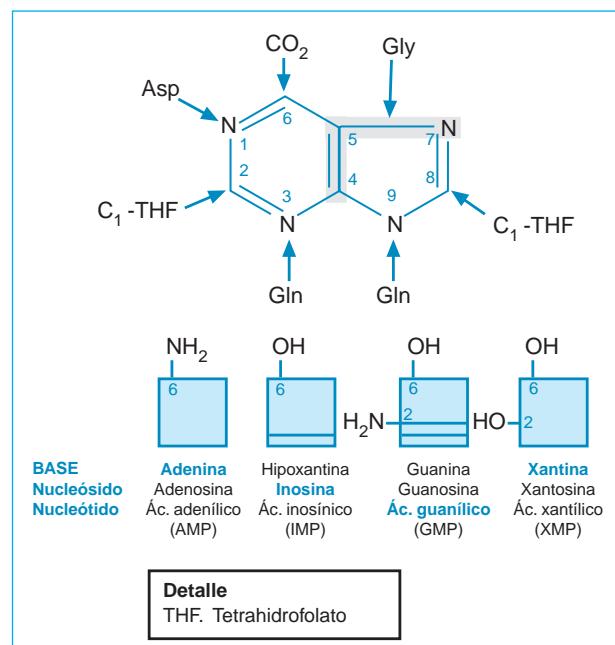


Figura 16-17. Estructura general pirimidínica, procedencia metabólica de los átomos y principales bases de interés biológico.

Si a un nucleósido se adicionan uno o más grupos fosfato, se forma un *nucleótido*. Los nucleótidos no son sólo constituyentes de los ácidos nucleicos, sino que forman parte muy activa del metabolismo celular, principalmente los que contienen adenina.

En la Figura 16-17 se puede observar que el núcleo pirimidínico es un heterociclo con dos átomos de nitrógeno situados en las posiciones 1 y 3. Las bases pirimidínicas más frecuentes en los ácidos nucleicos son el *uracilo* (2,4-dihidroxipirimidina), la *citosina* (2-hidroxi-4-aminopirimidina) y la *timina* (2,4-dihidroxi-5-metilpirimidina). En cuanto a su *tautomería ceto-enólica*, es aplicable lo ya indicado para los derivados purínicos. Respecto a los esquemas simplificados, de modo semejante a lo allí expuesto, el núcleo pirimidínico lo representaremos por un círculo, en lugar del cuadrado del purínico.

El origen de los átomos del núcleo pirimidínico es menos variado que en el caso del purínico. Así, los átomos 1, 4, 5 y 6 proceden del *aspartato* y el nitrógeno 3 y el carbono 2, del *carbamoilfosfato*, es decir, de la *glutamina* y el *CO₂*, respectivamente.

16.10 METABOLISMO DE LOS NUCLEÓTIDOS

En la *Figura 16-18* se expone un esquema general sobre el metabolismo extracelular (digestión) e intracelular de los derivados purínicos y pirimidínicos. La estructura ribonucleotídica purínica se puede alcanzar mediante una síntesis total desde sus adecuados precursores, o bien a través de las vías de rescate, salvamento o recuperación, cuya naturaleza se expondrá posteriormente, a partir del depósito de bases y nucleósidos preexistentes, procedentes de la dieta o del pro-

pio catabolismo purínico. En cuanto a los nucleótidos pirimidínicos, se sintetizan a partir de las bases y nucleósidos ya disponibles, pero, en este caso, la síntesis intracelular *de novo* se realiza desde las bases, no desde los nucleótidos, como ocurre con los purínicos. En cuanto a los desoxirribonucleótidos, se obtienen desde los correspondientes ribonucleótidos, mediante una reducción, catalizada enzimáticamente, desde la ribosa a la 2-desoxirribosa.

Lógicamente, los lugares de síntesis más activa se corresponden con las situaciones de multiplicación o división celular, en las que es necesario disponer de las correspondientes unidades formadoras para los nuevos ácidos nucleicos, así como también con las células con gran actividad de síntesis proteica y, por tanto, de gran producción de los correspondientes ARNm. En cuanto al catabolismo, es mayor en los sitios en que hay pérdidas celulares importantes (piel, mucosa intestinal, sangre, etc.).

16.10.1 Biosíntesis de los nucleótidos purínicos

Tal como se mostraba en la Figura 16-18, existen vías metabólicas que pueden reutilizar bases preformadas (procedentes

de la dieta o del metabolismo), que junto al 5-fosforribosil-1-pirofosfato, mediante enzimas *fosforribosilo transferasas*, catalizan la formación de los correspondientes nucleótidos. Estas denominadas *rutas de recuperación* logran sintetizar AMP o ácido adenílico a partir de adenina, con la enzima *adenina fosforribosilo transferasa*, mientras que otra enzima, la *hipoxantina-guanina fosforribosilo transferasa*, consigue obtener IMP o GMP a partir, respectivamente, de hipoxantina o de guanina. Este último es un ejemplo interesante y demostrativo de la importancia de las vías de recuperación, ya que la falta de esta enzima, codificada por un gen del cromosoma X, es el origen de la gravísima situación conocida como *síndrome de Lesch-Nyhan*, que cursa con graves alteraciones neurológicas y funcionales de los niños afectados.

En cualquier caso, la ruta biosintética más importante cuantitativamente es la *de novo*, que conduce a la estructura purínica del nucleótido *ácido inosínico*, IMP (Fig. 16-19a), precursor de AMP, XMP y GMP. El origen de los átomos del núcleo purínico es variado. Los átomos 4, 5 y 7 proceden de la glicina. Los dos nitrógenos, en posiciones 3 y 9, de la glutamina, mientras que el nitrógeno 1 tiene su origen en el aspartato. Enzimas de transferencia de una porción de un átomo de

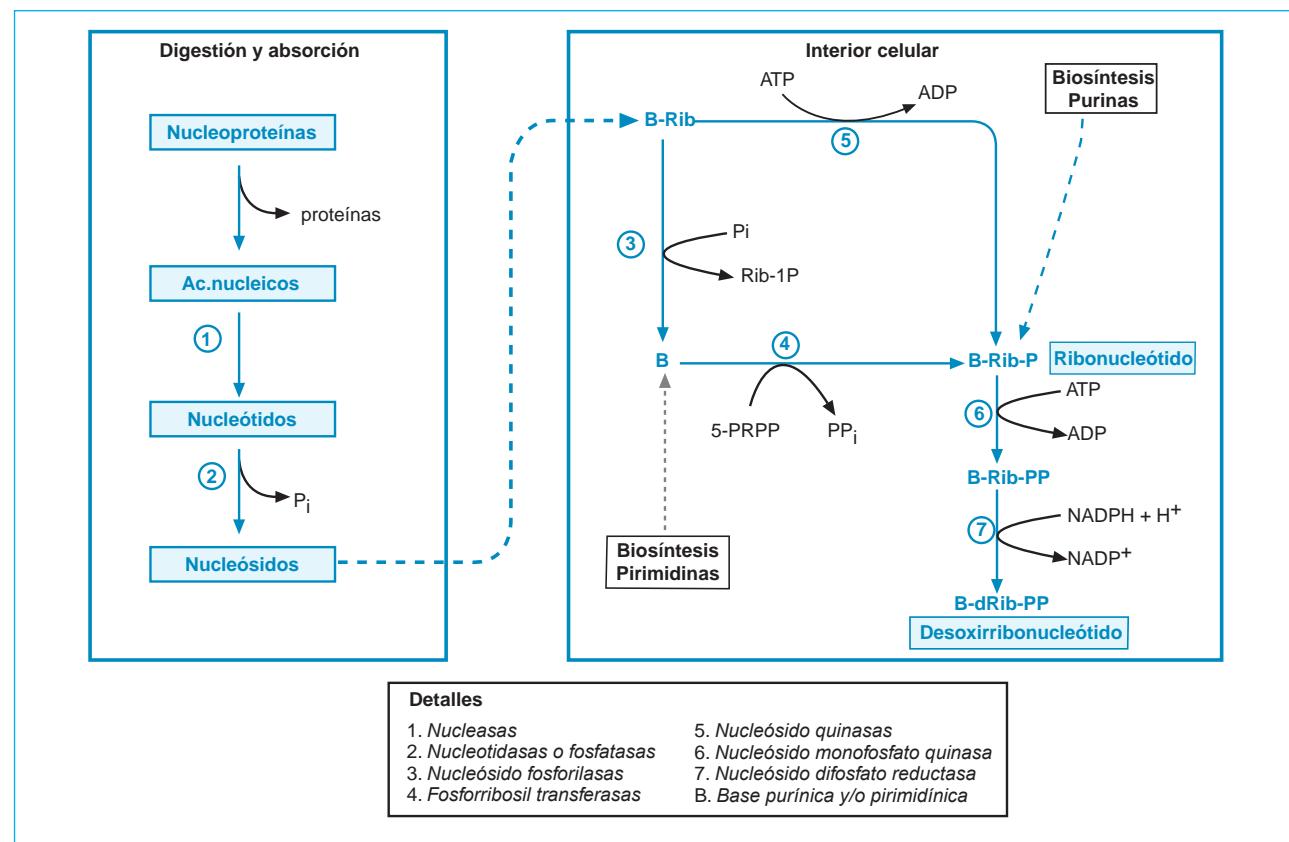
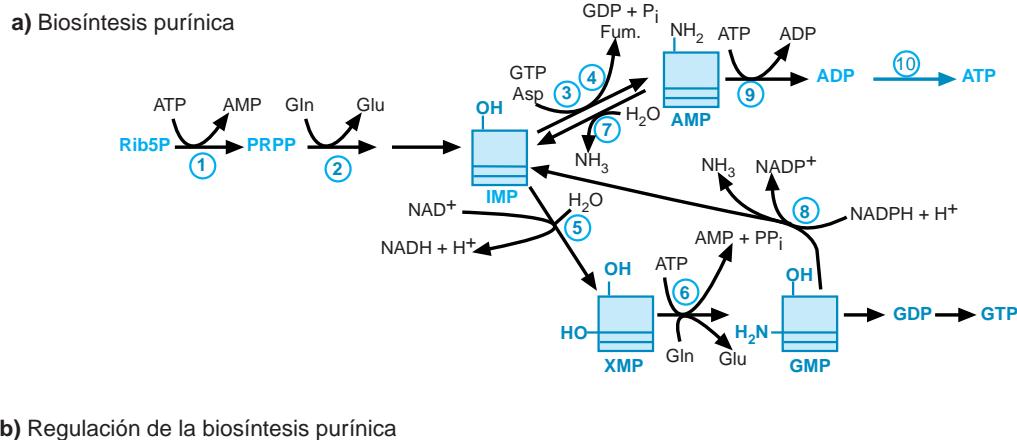
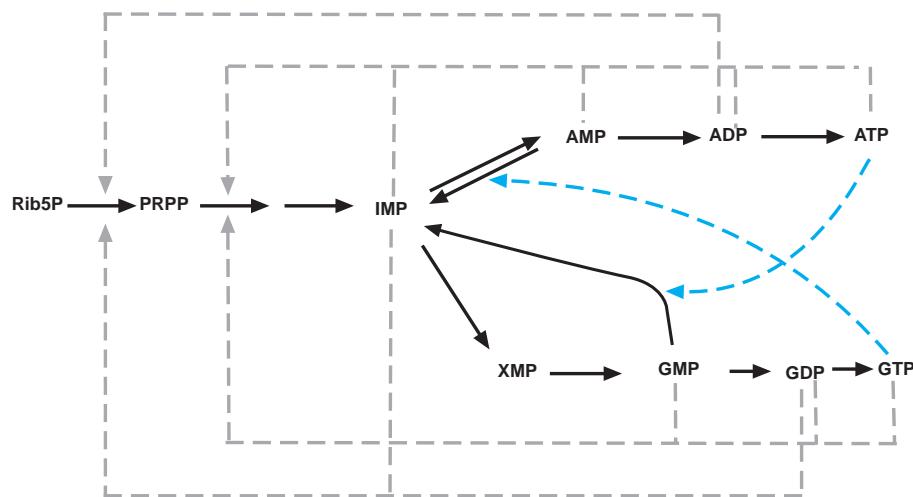


Figura 16-18. Esquema general del metabolismo purínico y pirimidínico.

**b) Regulación de la biosíntesis purínica**

Detalles	
ABREVIATURAS	ETAPAS
Rib5P: Ribosa-5-fosfato PRPP: 5'-fosforribosil-1'-pirofosfato Gln: Glutamina Glu: Glutamato Asp: Aspartato	1. Rib5P pirofosfoquinasa 2. PRPP amidotransferasa 3. Adenilsuccinato sintasa 4. Adenilsuccinato liasa 5. IMP deshidrogenasa
	6. GMP sintasa 7. AMP desaminasa 8. GMP reductasa 9. Adenilato quinasa 10. Fosforilación oxidativa
Inhibición: Líneas grises discontinuas Activación: Líneas azules discontinuas	

Figura 16-19. a) Esquema biosintético de los nucleótidos purínicos. IMP es el intermedio general. GTP es necesario para la obtención de ATP, y ATP es necesario para la obtención de GTP; b) Principales mecanismos de retrorregulación de la biosíntesis purínica mediante inhibidores y activadores.

carbono catalizan la cesión en C2 y C8, mientras que el carbono 6 procede de una carboxilación. Como primera etapa del proceso podemos considerar la síntesis del 5-fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP), catalizada por la enzima *ribosa-5-fosfato pirofosfoquinasa*, que necesita la energía de hidrólisis del ATP a AMP y que es muy importante para la regulación de la ruta.

Tras ello, una *amidotransferasa*, también allostéricamente regulable, da lugar a la formación de la 5'-fosforribosilamina, que posee ya un nitrógeno procedente de la glutamina. Se sucede luego una serie de nueve etapas, acompañadas de la hidrólisis de cuatro ATP, hasta producir IMP. Este nucleótido precursor purínico puede seguir dos alternativas:

- a) Mediante la *adenilsuccinato sintasa* y la *adenilsuccinato liasa*, de un modo análogo a lo que sucedía en el ciclo de la urea (en el paso desde citrulina hasta arginina), el nitrógeno del aspartato se introduce en la molécula aceptora del IMP, que se convierte en AMP, con la ayuda de la energía de hidrólisis de un GTP.
- b) Con el concurso de la *IMP deshidrogenasa*, el IMP se transforma en XMP que, mediante la *GMP sintasa*, conduce hasta GMP, necesitándose la energía de hidrólisis de un ATP hasta AMP y PPi.

Del modo descrito queda resuelta la biosíntesis de los correspondientes nucleósidos monofosfato purínicos. Desde el AMP, con la *adenilato quinasa*, se obtiene el ADP, que a través fundamentalmente de la fosforilación oxidativa se convierte en ATP, el cual, a su vez, actúa como dador de la energía de hidrólisis y de los fosfatos necesarios para ir fosforilando el resto de los nucleósidos monofosfato hasta la forma difosfato o trifosfato, mediante las correspondientes quinasas.

16.10.2 Regulación de la biosíntesis de los nucleótidos purínicos

La regulación del proceso ofrece ciertas peculiaridades dependiendo del organismo considerado, pero el esquema básico (Fig. 16-19b) consiste en que las dos enzimas iniciales de la vía, es decir, la *pirofosfoquinasa* y la *transferasa*, son reguladas por retroinhibición por los nucleósidos monofosfato finales IMP, AMP y GMP. Un hecho análogo sucede tras la bifurcación protagonizada por el IMP, ya que cada una de las dos ramas se inhibe específicamente por sus productos finales respectivos. Por otra parte, la participación del ATP (GTP) es necesaria para que se produzca el GMP (AMP) en la otra rama, lo que también sirve de mecanismo compensatorio. Asimismo, el ATP y el GTP pueden favorecer la síntesis de la vía alternativa a la suya propia, mediante las activaciones de las enzimas que transforman, respectivamente, GMP y AMP en IMP.

16.10.3 Catabolismo purínico

Como podemos observar en el esquema de la Figura 14-20, la degradación de los nucleótidos purínicos mediante las *nucleotidasas* o *nucleótidos fosfatases* y *nucleósidos fosforilasas* correspondientes, conduce hasta sus bases constitutivas, salvo en el caso de la adenosina que, mediante la *adenosina desaminasa*, se transforma en inosina, al no existir una adenosina fosforilasa. De un modo parecido, la base guanina se convierte en xantina. Finalmente, es la enzima *xantina oxidasa* la que actúa catalizando la oxidación, mediante

oxígeno, de la hipoxantina a xantina. Esta última molécula, producto de la reacción, se convierte en sustrato de la misma enzima y se oxida hasta ácido úrico, producto final, excretable por la orina en la mayoría de los primates, entre ellos el ser humano, y por algunas aves. En otros seres vivos, el ácido úrico puede continuar la ruta degradativa hasta alantoína (mamíferos no primates, ciertos reptiles y moluscos), ácido alantoico (peces teleósteos), o incluso urea y amoníaco (otros peces y anfibios).

En la *enfermedad de la gota* existe una superproducción de ácido úrico, y la poca solubilidad del urato sódico hace que se depositen cristales de éste en las articulaciones y el riñón (Recuadro 16-4). La falta de otra enzima del metabolismo, la *adenosina desaminasa*, debida a una mutación en su gen, situado en el cromosoma 20, es la responsable de un cierto número de casos de inmunodeficiencia combinada grave («niños burbuja»). La introducción de este gen, en 1991, en dos niñas afectadas fue el primer caso de terapia génica realizada con éxito, abriendo un nuevo camino terapéutico.

16.10.4 Metabolismo de los nucleótidos pirimidínicos

La principal diferencia entre la biosíntesis de los nucleótidos pirimidínicos y purínicos es que el núcleo pirimidínico se sintetiza desde la base, no desde el nucleótido. La ruta biosintética (Fig. 16-21) comienza y finaliza en el citoplasma, aunque una de sus etapas (*dihidroorotato deshidrogenasa*) es intramitocondrial. Se inicia la biosíntesis con la formación de carbamoilfosfato, al igual que en el ciclo de la urea, pero en esta ocasión la *carbamoilfosfato o fosfato de carbamoilo sintetasa II* es citoplasmática, está distribuida extrahepáticamente de un modo amplio, su dador nitrogenado es glutamina en lugar de NH_4^+ , y no se controla por N-acetylglutamato. La enzima es regulable por retroinhibición, por el UMP, mientras que el PRPP la activa. Tras ella, actúa la *aspartato carbamoiltransferasa* y otras dos enzimas más, con lo que se consigue la ciclación pirimidínica en forma de la base *ácido orótico*, que mediante la *orotato fosforribosiltransferasa*, de un modo semejante al anteriormente descrito para las vías de recuperación purínicas, cataliza la síntesis del nucleótido purínico *ácido orotídlico* (con el carboxilo en posición 6), cuya descarboxilación conduce al UMP.

La enzima *orotidilato descarboxilasa* hace que la reacción de descarboxilación se produzca cien mil millones de veces más rápida que la no catalizada enzimáticamente. El CTP deriva del UTP mediante la *CTP sintasa*, reacción en la que la glutamina proporciona el nitrógeno necesario y el ATP, su energía de hidrólisis.

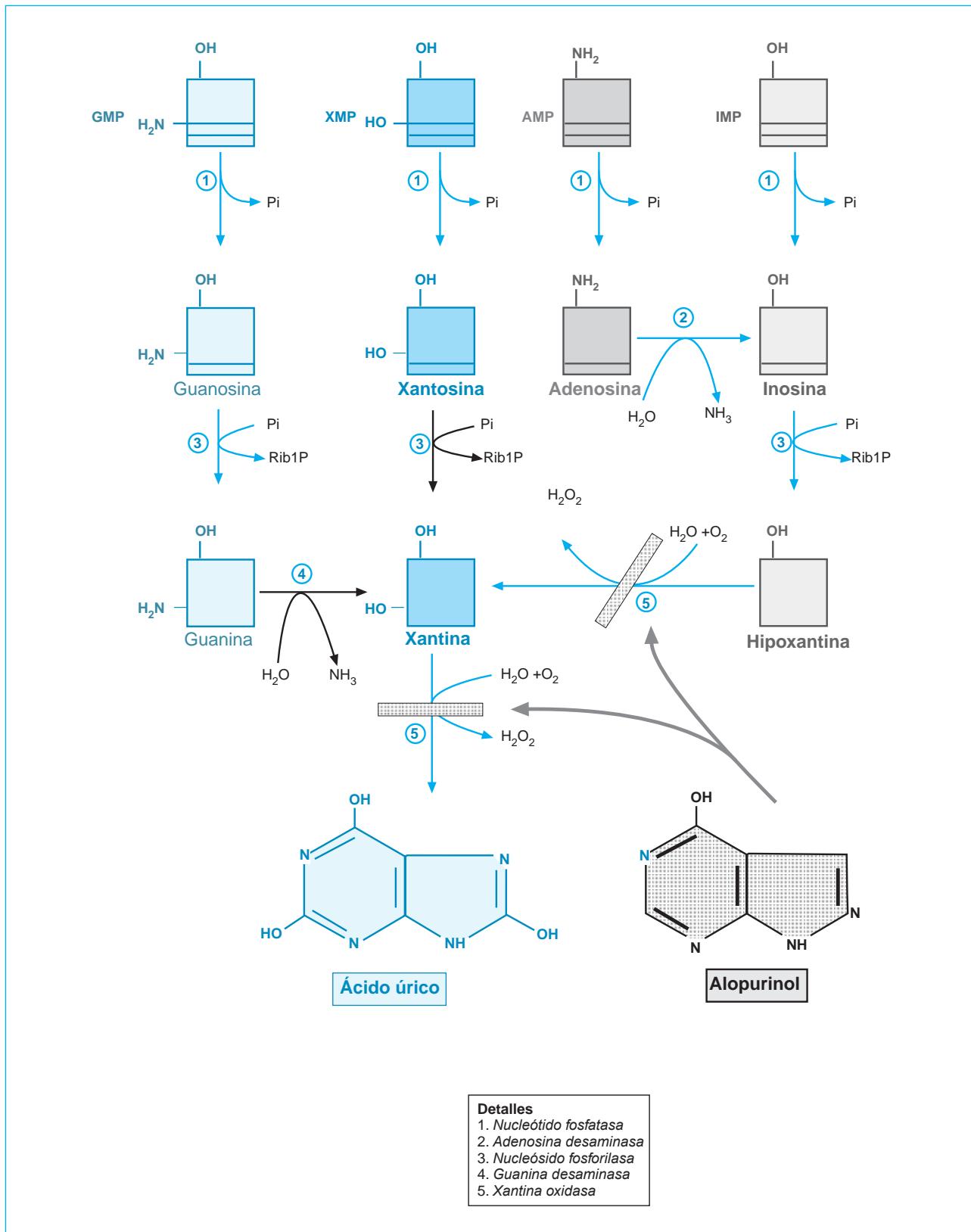


Figura 16-20. Catabolismo purínico confluente en un único producto final, el ácido úrico.

Recuadro 16-4. LA ENFERMEDAD DE LA GOTA

En la *enfermedad de la gota* existe una superproducción de ácido úrico, y la hiperuricemia producida (con valores sanguíneos superiores a 7 mg/dL en varones o 6 mg/dL en mujeres) y la poca solubilidad del urato sódico hace que se depositen cristales de éste en las articulaciones y el riñón. La inflamación producida atrae a los leucocitos que procuran capturar los cristales de urato, pero éstos pueden romper los lisosomas leucocitarios provocando un mayor daño tisular.

La gota primaria puede ocurrir por múltiples causas metabólicas que afecten, por ejemplo, a una inadecuada regulación de la *ribosa-5-fosfato pirofosfoquinasa* (con mayor producción de nucleótidos purínicos), un déficit en *hipoxantina-guanina fosforribosilo transferasa* (con un incremento en la concentración disponible de 5-fosforribosil-1-pirofosfato), o pro-

blemas en zonas metabólicamente más alejadas, como déficit en *glucosa-6-fosfataza hepática* (favoreciendo su conversión a ribosa-5-fosfato y a 5-fosforribosil-1-pirofosfato, PRPP).

Lógicamente, la mayor o menor concentración de nucleótidos purínicos en la dieta también tiene su influencia, aunque menor de la que históricamente se creyó, en el problema.

El *allopurinol*, por su similitud estructural con sustratos y productos, es un inhibidor competitivo de la *xantina oxidasa*, reduciendo la producción de ácido úrico, ya que la *xantina oxidasa* lo convierte en aloxantina que es un inhibidor competitivo de la propia enzima. De ahí su utilización, pues favorece la acumulación de hipoxantina y xantina, más solubles, que se van eliminando por la orina. El allopurinol puede convertirse en el correspondiente nucleótido por acción de las enzimas de recuperación, lo que ayuda a reducir las concentraciones disponibles de PRPP.

La colchicina también es utilizada, ya que es un alcaloide destructor de microtúbulos y reduce la inflamación de las articulaciones.

Diversas informaciones disponibles indican que el uso controlado de algunas sales potásicas, principalmente bicarbonato potásico, puede resultar muy positivo como alternativa de tratamiento. En este caso la acción puede ser variada: efecto alcalinizante del bicarbonato, efectos diuréticos, una solubilidad de las sales potásicas muy elevada respecto a la de las sódicas para los intermedios catabólicos y, posiblemente, algún efecto antiinflamatorio aún desconocido.

En el caso de la enfermedad hereditaria *xantinuria* se da el caso contrario, es decir, una falta de *xantina oxidasa* que impide la formación del ácido úrico, por lo que los productos catabólicos consisten fundamentalmente en xantina, que se deposita en forma de cálculos en el tracto urinario, además de producir otras complicaciones.

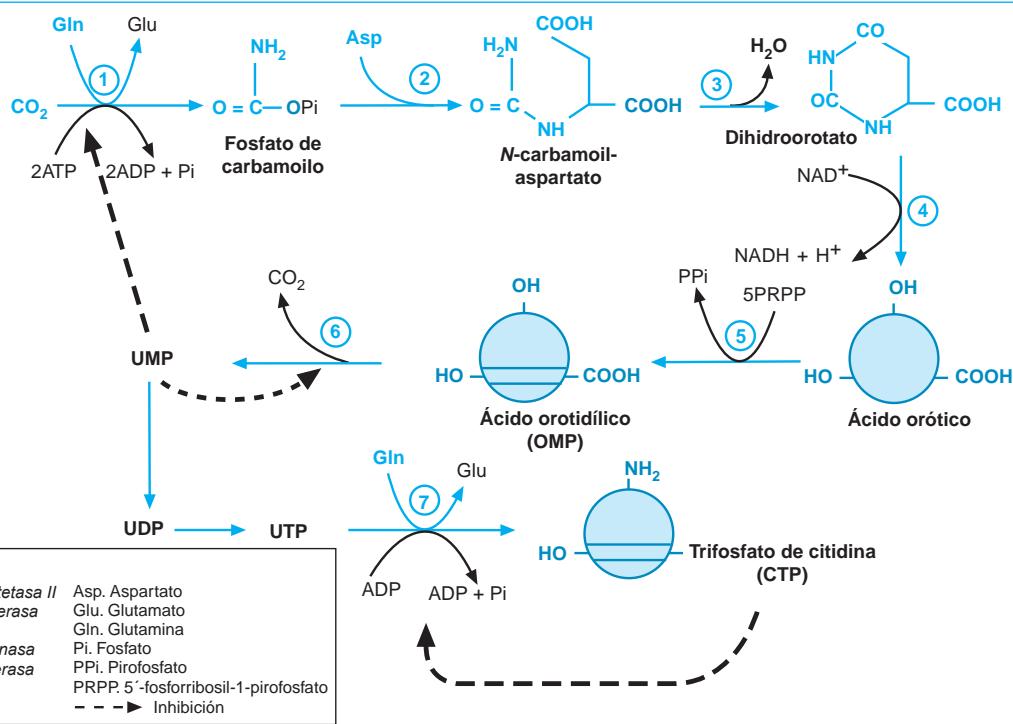


Figura 16-21. Esquema biosintético de los nucleótidos pirimidínicos y regulación del proceso.

En el metabolismo pirimidínico también se conocen alteraciones patológicas. Así, en la *aciduria orótica*, falla la *orotofosforribosiltransferasa* o la *orotidilato descarboxilasa*, o ambas, presentando los afectados cuadros de anemia megaloblástica, retraso mental y gran excreción de ácido orótico. Con dietas ricas en uridina, el nucleótido urídilico inhibe, tal como veímos anteriormente, la *fosfato de carbamoilo sintetasa II*, y los niveles de los diferentes metabolitos tienden a normalizarse.

Respecto al catabolismo pirimidínico, en primer lugar, desde los nucleótidos se llega a las correspondientes bases y tras diversos tipos de transformaciones metabólicas, el carbono 2 se convierte en CO₂ y el nitrógeno 3 se integra como glutamina; en cuanto a los otros cuatro átomos, en el caso del uracilo y la citosina, dan lugar al aminoácido β -alanina, mientras que en el de la timina, la presencia del grupo metilo hace que el producto resultante sea el β -amino-isobutirato. La β -alanina puede convertirse en malonilCoA y el β -aminoisobutirato, en succinilCoA.

16.10.5. Formación de desoxirribonucleótidos

Para la síntesis o replicación del ADN son necesarios (véase el Cap. 19) los correspondientes desoxirribonucleótidos, que poseen 2-desoxirribose en lugar de ribosa. La reducción se realiza en los nucleósidos difosfato, actuando el NADPH como reductor final, mediante un sistema enzimático cuya actividad *ribonucleótido reductasa* o *ribonucleósido difosfato reductasa*

hace que una pequeña proteína participante, la *tiorredoxina*, actúe como reductora formándose en la misma un puente cistina entre dos residuos de cisteína. La situación inicial de la tiorredoxina se recupera mediante una actividad flavoenzimática *tiorredoxina reductasa*, cuyo reductor final es el NADPH (Fig. 16-22). Se han descrito otros mecanismos alternativos en los que la tiorredoxina es sustituida por una proteína, la *glutarredoxina*, y la *tiorredoxina reductasa*, por la enzima *glutarredoxina reductasa*; el *glutatión reducido* actúa como molécula reductora y se convierte en *glutatión oxidado* (véase el Cap. 7). La vuelta a la situación inicial del glutatión reducido se cataliza por una *glutatión reductasa*, dependiente de NADPH.

En ausencia de efectores, el sistema biosintético presenta una baja actividad. El dATP (desoxiATP) y el ATP son sus principales reguladores. En efecto, el dATP bloquea todas las reacciones, mientras que el ATP estimula la reducción de todos los nucleótidos, directamente sobre los pirimidínicos UDP y CDP hasta llegar a dUDP y dCDP, e indirectamente, sobre los purínicos: el ATP favorece la obtención secuencial de dCDP, dUMP y dTTP, y el dTTP activa la transformación de GDP hasta dGDP; el dGTP, a su vez, incrementa la conversión de ADP hasta dADP. Todo ello significa la existencia de un fino control del proceso.

El conocimiento molecular del metabolismo de los nucleótidos purínicos y pirimidínicos y el de los ácidos nucleicos está proporcionando una información valiosísima que es utilizada para el diseño y la preparación de agentes quimioterapéuticos (Recuadro 16-5).

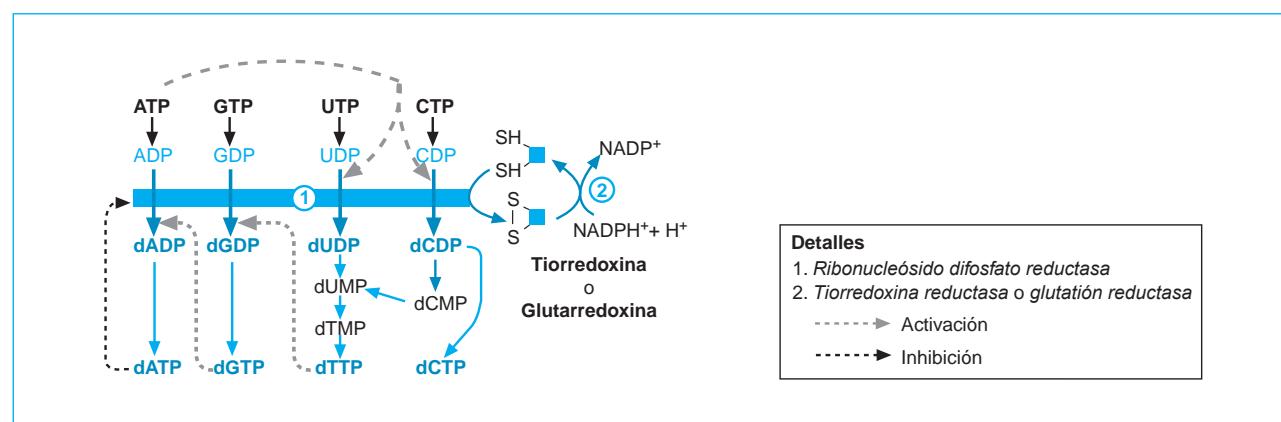


Figura 16-22. Biosíntesis de los difosfatos de desoxirribonucleósido a partir de los correspondientes difosfatos de ribonucleósido.

Recuadro 16-5.

AGENTES QUIMIOTERAPÉUTICOS

En el Capítulo 29 se tratan algunos aspectos moleculares del cáncer y se insiste en la alta velocidad de multiplicación de las células malignas, lo que provoca una gran actividad del metabolismo de los materiales genéticos, con una gran necesidad de dTTP (timidina trifosfato). La disminución o el control de esa multiplicación se puede conseguir con diferentes metabolitos, que por su analogía estructural con otros naturales, interfieran, usando una amplia variedad de mecanismos, en el proceso. De ahí su uso en la quimioterapia de los procesos malignos, luchas antivirales, entre otros. Entre ellos se pueden señalar:

1. Antimetabolitos que son análogos estructurales de bases y nucleósidos: 6-mercaptopurina, 5-fluorouracilo, deazauridina, arabinósido de adenina, arabinósido de citosina, etcétera.
 2. Hemos descrito anteriormente que la glutamina o el ácido tetrahidrofólico desempeñan un importante papel como suministradores de átomos en los esqueletos purínicos y pirimidínicos. Por ello, para detener la alta velocidad de proliferación celular de los procesos malignos, se puede intentar una aproximación basada en usar análogos estructurales de la glutamina (azaserina, 6-diazo-5-oxo-l-norleucina: [DON] o del tetrahidrofolato [metotrexato]), (Fig. 16-23).

3. Existen otras posibilidades de interferir en el metabolismo de los ácidos nucleicos. Por ejemplo, la dihidroxiurea inhibe la *ribonucleótido reductasa* y, con ello, la síntesis del ADN. La tiazofurina forma un dinucleótido de adenina, análogo estructural del NAD⁺, bloqueando la obtención de GMP.
 4. Una aproximación similar está resultando útil en la lucha contra ciertos virus, interfiriendo los mecanismos de su multiplicación.

ción. Así sucede con la aciclo-guanosina o aciclovir, en el caso del herpes. En el caso del VIH, responsable del SIDA, la AZT (Fig. 16-23) se convierte en AZT-trifosfato, que bloquea la enzima *transcriptasa inversa* del VIH (virus de la inmunodeficiencia humana) con una eficacia más de 100 veces superior a su efecto inhibitorio sobre la *ADN polimerasa* de las células humanas.

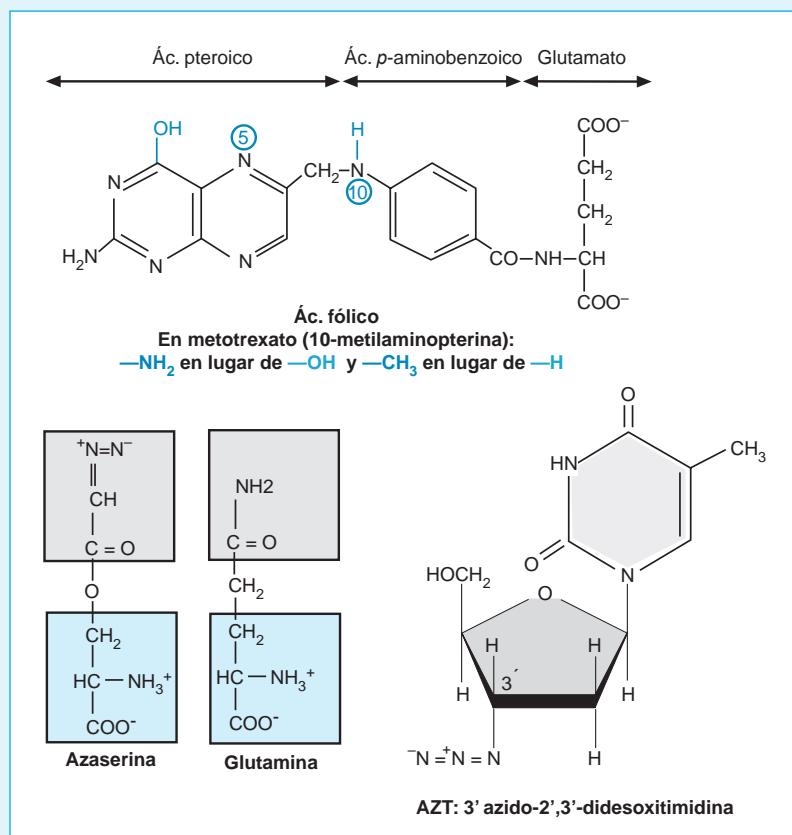


Figura 16-23. Estructuras del ácido fólico y de su antagonista metotrexato; de la glutamina y de su análogo azaserina; y del AZT.

RESUMEN

- Las biomoléculas nitrogenadas incluyen a proteínas, aminoácidos, nucleótidos y una gran variedad de compuestos importantísimos, por lo que el estudio de los aspectos esenciales de su metabolismo es uno de los principales objetivos de la Bioquímica.
- Algunos microorganismos, de modo independiente o de forma simbiótica con las raíces de ciertas plantas, son capaces de transformar el nitrógeno gaseoso, biológicamente inactivo, en las formas activas biológicas de iones amonio y nitrato, a partir de las cuales se derivarán las restantes biomoléculas nitrogenadas.
- En la economía nitrogenada diaria de un ser humano, cabe destacar el importante recambio proteínico existente, que significa que cerca de 300 g de proteínas hayan de ser catabolizadas intracelularmente y sustituidas por otra cantidad similar nuevamente sintetizadas.
- La proteólisis intracelular juega un importante papel en procesos biológicos esenciales. Se trata de procesos complejos y aún no totalmente conocidos, con una amplia variedad de alternativas y controles reguladores. Entre ellos, destaca el papel del proteasoma 26S y el del sistema señalizador de la ubiquitina.
- El amoníaco es un tóxico potente. Para procesar y eliminar sin peligro aproximadamente un mol diario de amoníaco existen diversas posibilidades metabólicas de liberación y fijación de los grupos amídicos de los aminoácidos, garantizando su transporte desde los tejidos al hígado, donde se integra en el ciclo de la urea.
- Las enzimas del ciclo de la urea, intramitocondriales y citoplasmáticas procesan, en cada vuelta del ciclo, la entrada de dos porciones amídicas y un átomo de carbono, dando lugar a la liberación de una molécula de urea que, vía sanguínea, será eliminada por la excreción renal de la orina. Las patologías relacionadas con el ciclo de la urea producen graves hiperamonemias.
- El destino catabólico del esqueleto carbonado de los 20 aminoácidos proteínicos es variado. Dos de ellos, leucina y lisina, son totalmente cetogénicos. Otros, como fenilalanina, tirosina, triptófano, treonina e isoleucina son catabólicamente clasificados como mixtos, mientras el resto son gluconeogénicos, es decir, dan lugar a piruvato o a algún metabolito relacionado con el ciclo del citrato que, vía oxalacetato, pueda ser un sustrato gluconeogénico.
- En varias transformaciones relacionadas con el catabolismo carbonado de los aminoácidos se producen transferencias de fracciones monocarbonadas unidas al ácido tetrahidrofólico (THF). El sistema THF es usado en variados e importantes procesos metabólicos para la entrada y salida de fragmentos monocarbonados.
- Existe un amplio catálogo de anomalías enzimáticas de causa genética relacionadas con el catabolismo de los aminoácidos. Son las aminoacidopatías de gravedad y pronóstico variable, dependiendo de los casos, aunque en las más frecuentes, si se hace un diagnóstico precoz, son eficaces los tratamientos dietéticos dirigidos a evitar el acúmulo del aminoácido no catabolizado correctamente.
- El hígado es el órgano más importante en el catabolismo de los aminoácidos, con excepción de los aminoácidos ramificados que son catabolizados selectivamente en el músculo esquelético, mientras que el intestino necesita del aporte de los aminoácidos más nitrogenados. La descarboxilación de los aminoácidos es un proceso esencial en el cerebro para la producción de neurotransmisores y otras aminas reguladoras.
- La biosíntesis de los aminoácidos se realiza agrupados en las llamadas familias biosintéticas. Los seres humanos han perdido la capacidad de sintetizar aproximadamente la mitad de los 20 aminoácidos proteínicos. Los aminoácidos esenciales han de ser tomados en la dieta.
- Entre las sustancias nitrogenadas biológicamente más importantes se encuentran los nucleótidos purínicos y pirimidínicos. Hay mecanismos de recuperación o salvamento para obtenerlos a partir de bases preexistentes, que pueden proceder de la dieta, pero también existen vías propias diferentes, con finos procesos de regulación y control, para la obtención equilibrada de los nucleótidos purínicos y pirimidínicos.
- El catabolismo de los nucleótidos purínicos conduce a un único producto final, el ácido úrico, eliminado por la urea. El de los nucleótidos pirimidínicos, según los casos, conduce a malonilCoA o a succinilCoA. Diversas patologías están relacionadas con el metabolismo de los nucleótidos: síndrome de Lesch-Nyhan (biosíntesis de purínicos), gota y xantinuria (catabolismo purínico) o aciduria orótica (biosíntesis de pirimidínicos).
- La obtención de los desoxirribonucleótidos, también es una transformación muy regulada en la que el NADPH es el reductor final de un proceso que se realiza en los ribonucleósidos difosfato que son convertidos en los correspondientes desoxirribonucleósidos difosfato.
- Los análogos estructurales de bases, nucleósidos y nucleótidos y de otras moléculas íntimamente relacionadas con el metabolismo de los nucleótidos son el punto de partida para el desarrollo de los modernos agentes quimioterapéuticos antitumorales.

EVALUACIÓN

1. (C). En condiciones normales, el gasto energético para la reposición proteica diaria representa más del 10% del metabolismo basal PORQUE se han de sintetizar unos 300 g de proteínas y la incorporación de cada mol de aminoácido supone un gasto de 10 moles de ATP.

a b c d e
2. (B). *Catepsinas*:
 1. Son endopeptidasas.
 2. Hay de diferentes tipos, pero todas poseen la misma especificidad.
 3. Su pH óptimo de actuación suele ser ácido, el existente intralisosomalmente.
 4. Existen hasta tres clases conocidas: A, B y C.

a b c d e
3. (B). Ubiquitina:
 1. Está presente en los núcleos celulares.
 2. Participa en ciertas vías proteolíticas no lisosomales.
 3. Colabora en procesos proteolíticos en los que es necesario el aporte energético de la hidrólisis del ATP.
 4. Es una macroproteína proteolítica degradativa mitocondrial.

a b c d e
4. (B). Las siguientes circunstancias hacen disminuir, en general, la vida media de las proteínas y enzimas:
 1. La desnaturización proteica.
 2. Su mayor tamaño molecular.
 3. Altos niveles de glucagón.
 4. Niveles altos de tiroxina y de glucocorticoides.

a b c d e
5. (C). En los seres humanos se encuentran diferentes *aminotransferasas* PORQUE estas enzimas son necesarias para que la absorción de los aminoácidos de la dieta se realice en forma de cetoácidos.

a b c d e
6. (B). La glutamina puede ser sustrato o producto de las siguientes enzimas:
 1. *Glutaminasa*.
 2. *Glutamina aminotransferasa*.
 3. *Glutamina sintetasa*.
 4. *Carbamoylfosfato sintetasa I*.

a b c d e
7. (A). Ciclo de la urea:
 - a. En mamíferos sólo tiene lugar en las células renales.
 - b. El aporte de nitrógeno se realiza exclusivamente a través del fosfato de carbamoilo.
 - c. La *arginasa* cataliza el paso más irreversible del ciclo.
 - d. Si el fumarato se reconvirtiese en aspartato, el proceso se realizaría en dos etapas catalizadas enzimáticamente.
- e. La arginina no se puede transformar hasta succinilarginina mediante pasos realizados en el citoplasma.
8. (B). Existe una relación directa entre los aminoácidos indicados y su producto metabólico:
 1. Ornitina → putrescina.
 2. Lisina → cadaverina.
 3. Glutamato → aminobutirato.
 4. Histidina → histamina.

a b c d e
9. (A). En la formación de melaninas, a partir de la tirosina, ésta se ha de convertir previamente en:
 - a. Dopa.
 - b. Tirimina.
 - c. Dopamina.
 - d. Fenilalanina.
 - e. Tiroxina.
10. (C). El hígado es el principal órgano regulador del catabolismo de los aminoácidos PORQUE, de un modo preferencial, hepáticamente se metabolizan, tanto los aminoácidos no esenciales, como los esenciales ramificados.

a b c d e
11. (B). Pertenecen a la familia biogenética del aspartato:
 1. Metionina.
 2. Asparragina.
 3. Treonina.
 4. Homoserina

a b c d e
12. (B). A partir del IMP, precursor del resto de los nucleótidos purínicos, se forma, en una sola etapa enzimática:
 1. AMP.
 2. XMP, necesitando la energía de hidrólisis del ATP.
 3. GMP, con el concurso de la *GMP sintasa*.
 4. XMP, necesitando el aporte nitrogenado de glutamina.

a b c d e
13. (C). El allopurinol, empleado en el tratamiento de la enfermedad de la gota, bloquea la síntesis de la hipoxantina PORQUE ejerce una inhibición competitiva sobre la *xantina oxidasa*.
14. (A). Metabolismo de los nucleótidos pirimidínicos:
 - a. La síntesis del núcleo pirimidínico se realiza a nivel de nucleótido.
 - b. Los precursores biogenéticos más importantes son la urea y el glutamato.
 - c. El ácido orotídilico es precursor del ácido urídilico.
 - d. El UTP se forma a partir del CTP.
 - e. La *carbamoylfosfato sintetasa* que interviene es la misma que actúa en el ciclo de la urea.
15. (C). La enzima *ribonucleótido difosfato reductasa* se inhibe por ATP PORQUE el ATP favorece directamente que la *tiorredoxina reducida* se transforme en *tiorredoxina oxidada*.

BIBLIOGRAFÍA

- Anand U, Anand CV: The *de Novo* Pathway of Purine Nucleotides. *Biochem Mol Biol Educ* 2002; 30: 35.
- Banfalvi G: Conversion of oxidation energy to reductive power III. Hydrolytic energy conservation in amino acid metabolism. *Biochem Mol Biol Educ* 1992; 20: 216-219.
- Fernández-Cañón JM *et al*: The molecular basis of alkaptonuria. *Nature Gen* 1996; 14: 19-24.
- Fontecave M, Atta M, Mulliez E: S-adenosylmethionine: nothing goes to waste. *TiBS* 2004; 29: 243-249.
- Goldberg AL, Elledge SJ, Harper JW: Proteasomas. *Inv y C* 2001; marzo: 22-27.
- Hartmann-Petersen R, Seeger M, Gordon C: Transferring substrates to the 26S proteasome. *TiBS* 2003; 28: 26-31.
- Kim CA, Bowie JU: SAM domains: uniform structure, diversity of function. *TiBS* 2003; 28: 625-628.
- Medina MA, Urdiales JL, Amores-Sánchez MA: Roles of homocysteine in cell metabolism. Old and new fuctions. *Eur J Biochem* 2002; 268: 3871-3882.
- Resta R, Thompson LF: SCID: the role of adenosine deaminase deficiency. *Inmunol. Today* 1997; 18: 371-374.
- Schubert HL, Blumenthal RM, Cheng X: Many paths to methyltransfer: a chronicle of convergence. *TiBS* 2003; 28: 329-335.
- Watford M: The Urea Cycle: Teaching Intermediary Metabolism In a Physiological Setting. *Biochem Mol Biol Educ* 2003; 31: 289-297.

17.1 INTRODUCCIÓN

En capítulos precedentes hemos descrito las vías catabólicas de obtención de energía por medio de la oxidación de los azúcares, los ácidos grasos, o del esqueleto carbonado de los aminoácidos. Parte de esta energía se utiliza para impulsar vías biosintéticas y el flujo a través de las vías anabólicas y catabólicas se regula esencialmente por la carga energética celular. Además, se han estudiado los principales puntos de regulación de las vías catabólicas, consideradas individualmente. Pero para que el funcionamiento de la célula o el organismo sea óptimo, estas vías deben regularse conjuntamente. En organismos superiores, los distintos órganos cumplen funciones específicas y poseen capacidades metabólicas diferentes. En consecuencia, en todo momento se encuentran en estado funcional, simultáneamente, muchas rutas metabólicas distintas. El flujo a través de estas vías se adapta a la disponibilidad de nutrientes para cubrir las necesidades de los órganos, alterando lo menos posible la composición química del medio interno. Esta *integración metabólica*, considerada como la interrelación de los procesos metabólicos, consigue que el aprovechamiento de los nutrientes o las reservas del organismo sea equilibrado, aún en condiciones de estrés, como el ayuno.

En este capítulo, se expondrán los mecanismos generales de la regulación del flujo e integración de las vías metabólicas, así como las principales diferencias en el perfil metabólico de los órganos. Además, describiremos los mecanismos de integración del metabolismo de los hidratos de carbono y los lípidos, y la adaptación a algunas situaciones extremas como el ayuno prolongado, y la diabetes mellitus dependiente de insulina. La integración durante el ejercicio se abordará en el Capítulo 32.

17.2 MECANISMOS GENERALES DE REGULACIÓN E INTEGRACIÓN METABÓLICA

17.2.1 Control del flujo a través de las vías metabólicas. Etapas limitantes del flujo

El flujo de las vías metabólicas transcurre a una velocidad determinada por la de la reacción más lenta de la vía. Esta

reacción se denomina *etapa limitante del flujo* y la enzima que la cataliza suele estar fuertemente regulada, ya que su actividad determina el flujo de materia a través de la vía. Las etapas limitantes suelen coincidir con reacciones irreversibles situadas al principio de la vía. Así, si la velocidad de la etapa limitante disminuye, se reduce también el consumo del sustrato inicial, que queda libre para otros procesos, y se limita la acumulación de intermediarios no utilizados.

La velocidad de la etapa limitante del flujo puede alterarse por cambios en la concentración del sustrato, o por una modificación de la actividad específica de la enzima o de su cantidad. Los cambios en la cantidad o en la capacidad catalítica de las enzimas limitantes del flujo están frecuentemente sometidos a una regulación hormonal, lo que proporciona mecanismos de integración complejos y versátiles.

17.2.2 Modificación de la actividad específica de las enzimas reguladoras del flujo. Aplicación a la regulación del metabolismo de los hidratos de carbono

Los mecanismos más frecuentes de control de la actividad específica de las enzimas reguladoras del flujo son, sin duda, las interacciones alóstéricas y la modificación covalente por fosforilación-desfosforilación (véase el Cap. 9). Los activadores o inhibidores alóstéricos actúan como señales químicas que transmiten información sobre el estado metabólico de la célula o del conjunto del organismo. Un ejemplo típico es la regulación de la *fosfofructoquinasa (PFK)* por ATP, citrato y fructosa-2,6-bisfósfato, que determina el flujo a través de la vía glicolítica (véase el Cap. 14). La PFK se inhibe fuertemente por ATP, que desplaza su curva de saturación por fructosa-6-fósfato hacia la derecha, y se activa intensamente por fructosa-2,6-bisfósfato, que desplaza la curva hacia la izquierda (Fig. 17-1) y es capaz de revertir la inhibición por ATP. En muchos tejidos, entre ellos el músculo, la glicólisis se bloquea por la inhibición de PFK, mediada por ATP. Así, el consumo de glucosa se ajusta a las necesidades energéticas de la fibra muscular, tendiendo a un mínimo cuando la carga energética celular es alta. En este caso, la vía responde a una información procedente de la propia célula.

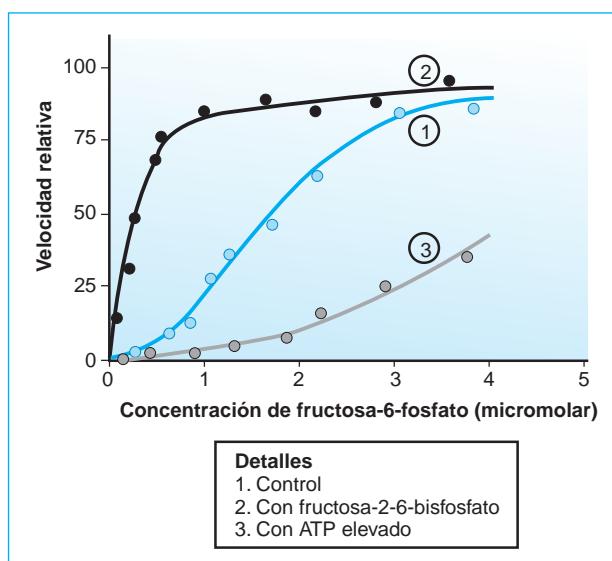


Figura 17-1. Regulación alostérica de la fosfofructoquinasa por ATP y fructosa-2,6-bisfosfato.

En el hígado, fructosa-2,6-bisfosfato es un activador potente de *PFK* y un fuerte inhibidor de *fructosa-1,6-bisfosfatasa*, una de las enzimas reguladoras del flujo de la vía gluconeogénica. Los niveles de este metabolito están regulados por el glucagón (véase le Cap. 14), y, por tanto, están relacionados con la glucemia. Cuando la glucemia es baja y los niveles de glucagón altos, la concentración de fructosa-2,6-bisfosfato en el hepatocito disminuye. La *PFK* hepática pierde actividad, al desaparecer su activador alostérico, y la glicólisis resulta inhibida. El hígado deja entonces de consumir glucosa, contribuyendo así al mantenimiento de la glucemia. Puesto que *PFK* es una enzima específica de la glicólisis, no compartida con la gluconeogénesis, la inhibición del consumo hepático de glucosa se produce sin que se inhiba la vía gluconeogénica. Al contrario, la gluconeogénesis se activa, ya que al caer la concentración de fructosa-2,6-bisfosfato se revierte la inhibición de *fructosa-1,6-bisfosfatasa* por este metabolito. Así, la variación de un metabolito intracelular, inducida hormonalmente, regula conjuntamente las vías glicólica y gluconeogénica.

El segundo mecanismo común de regulación de la actividad específica de enzimas clave es la fosforilación-desfosforilación, catalizada por *proteína quinasas*. Puesto que la actividad de las *proteína quinasas* suele estar bajo control hormonal (véase el Cap. 12), los equilibrios de fosforilación-desfosforilación constituyen un mecanismo idóneo de regulación e integración. Mediante su conexión con el sistema endocrino, permiten adaptar el flujo de las vías metabólicas a cambios en el medio interno o en el entorno. Un ejemplo es la regulación del metabolismo del glucógeno hepático, en

relación con la glucemia. La activación de la cascada del AMPc mediada por glucagón cuando la glucemia es baja, activa la *fosforilasa* responsable de la degradación del glucógeno, e inhibe la *glucógeno sintasa*. Este efecto del glucagón aumenta la capacidad del hígado de corregir la glucemia.

17.2.3 Modificación de la cantidad de enzimas reguladoras del flujo

La cantidad de una enzima presente en las células puede modificarse por varios tipos de estímulos. En los organismos eucarióticos, estos estímulos son casi siempre hormonales. La concentración intracelular de cada proteína es el resultado del equilibrio entre su velocidad de síntesis y de degradación. Por tanto, las hormonas pueden modificar el contenido intracelular de una proteína, alterando cualquiera de estos dos procesos. Además de actuar sobre los niveles de las enzimas, las hormonas pueden modificar el número de transportadores específicos para un determinado metabolito, presentes en la membrana plasmática, alterando la disponibilidad de ciertos precursores. Por ejemplo, la insulina aumenta el número de transportadores de glucosa en la membrana del hepatocito, facilitando la captación hepática de glucosa cuando la glucemia es alta.

En las bacterias, los mecanismos de adaptación de los niveles de enzima son más comunes que en las células eucarióticas. En este caso, la señal más frecuente es la presencia (o ausencia) de un determinado metabolito en el medio. Por ejemplo, en muchas bacterias las enzimas del metabolismo de la lactosa se inducen; es decir, el número de moléculas enzimáticas aumenta cuando el medio de cultivo contiene este disacárido.

17.3 PERFIL METABÓLICO DE LOS PRINCIPALES ÓRGANOS

Las diferencias de capacidad metabólica de los distintos órganos constituyen un aspecto esencial de la regulación metabólica en los organismos superiores. Estas diferencias permiten una cooperación entre órganos, pero a la vez requieren la existencia de mecanismos de comunicación hormonal que faciliten un funcionamiento integrado. A continuación, se describen las características principales del metabolismo energético de distintos órganos.

17.3.1 El hígado

El hígado regula la disponibilidad de los combustibles metabólicos. Se encarga de controlar la glucemia y buena parte del metabolismo lipídico, y obtiene una elevada proporción

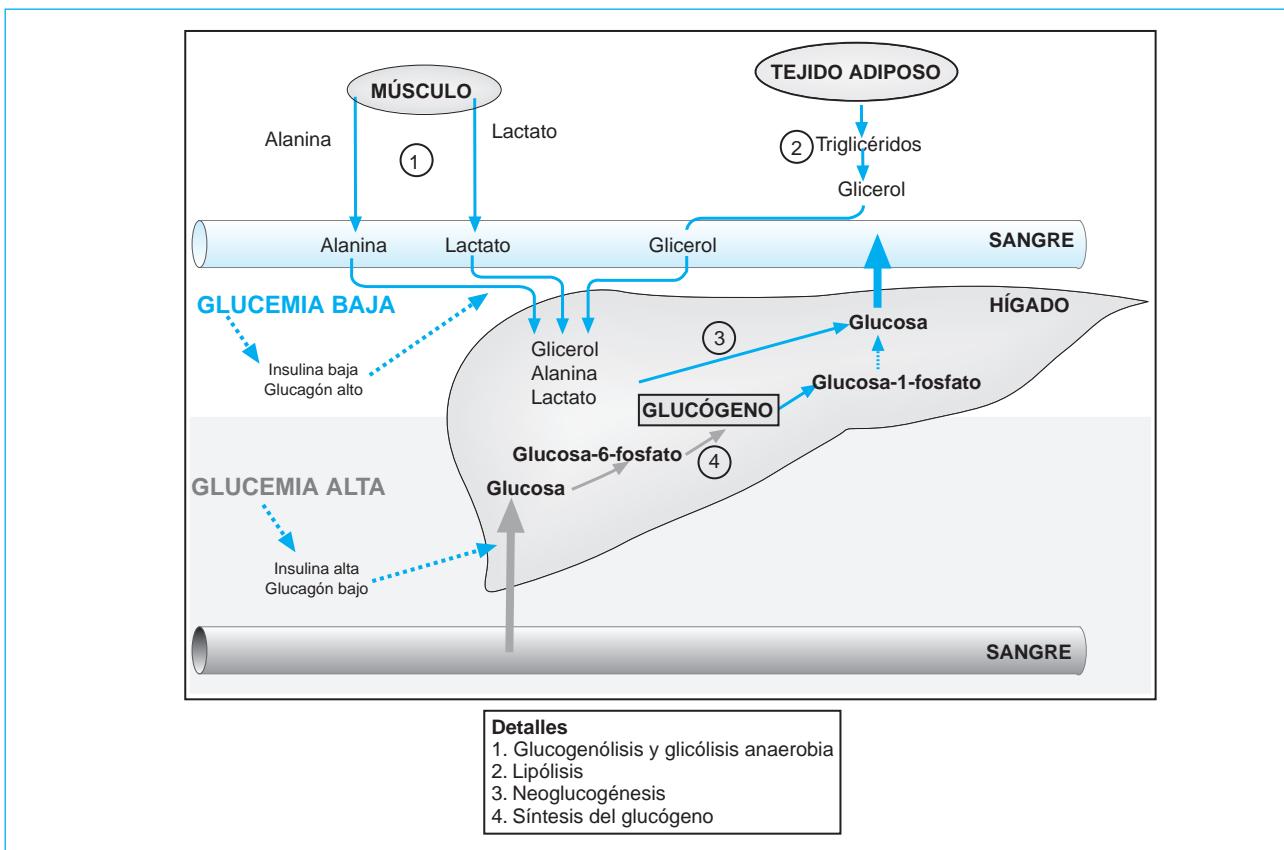


Figura 17-2. Papel del hígado en el control de la glucemia. El hígado desempeña un papel regulador de la glucemia. En condiciones de glucemia baja, recibe precursores neoglucogénicos y los transforma en glucosa. Cuando la glucemia es alta (parte inferior de la figura), retira glucosa de la sangre y la almacena como glucógeno.

de la energía necesaria para estas funciones a partir de otros tipos de nutrientes, como los aminoácidos de la dieta. Cuando la glucemia es alta, el hígado retira glucosa sérica, almacenándola en forma de glucógeno. Recuérdese que la diferencia de K_m entre la glucoquinasa hepática y las hexoquininas existentes en otros tejidos asegura que sólo haya captación neta de glucosa por el hígado cuando los niveles de glucosa sérica son elevados. Por otra parte, cuando la glucemia es baja, el hígado libera glucosa degradando el glucógeno y activando la gluconeogénesis. Los principales precursores gluconeogénicos son el glicerol, derivado de la movilización de los triacilglicéridos, el lactato y la alanina procedentes del tejido muscular, y los aminoácidos glucogénicos de la dieta, o, en casos de ayuno extremo, de las proteínas corporales. Este papel regulador de la glucemia se esquematiza en la Figura 17-2.

Además, el hígado se encarga de la síntesis de los ácidos grasos a partir de acetilCoA, cuando las disponibilidades de nutrientes son altas. Durante el ayuno, sintetiza y vierte al

torrente circulatorio cuerpos cetónicos, utilizados como combustible por otros tejidos (Figura 17-3).

17.3.2 El tejido adiposo

El tejido adiposo es la principal reserva de combustibles metabólicos y precursores gluconeogénicos en el ayuno, por lo que su metabolismo está estrechamente relacionado con el del hígado (Fig. 17-3).

Cuando abundan los nutrientes, el hígado sintetiza ácidos grasos, que son enviados al tejido adiposo en forma de VLDL (véase el Cap. 15). El tejido adiposo los esterifica y almacena como triacilglicéridos. Cuando la glucemia baja, los triacilglicéridos del tejido adiposo son hidrolizados a ácidos grasos y glicerol. Estos compuestos pueden ser utilizados como combustible por algunos órganos, o son captados por el hígado y transformados en glucosa (el glicerol) o cuerpos cetónicos (los ácidos grasos), que vuelven al torrente circulatorio para ser distribuidos por el organismo.

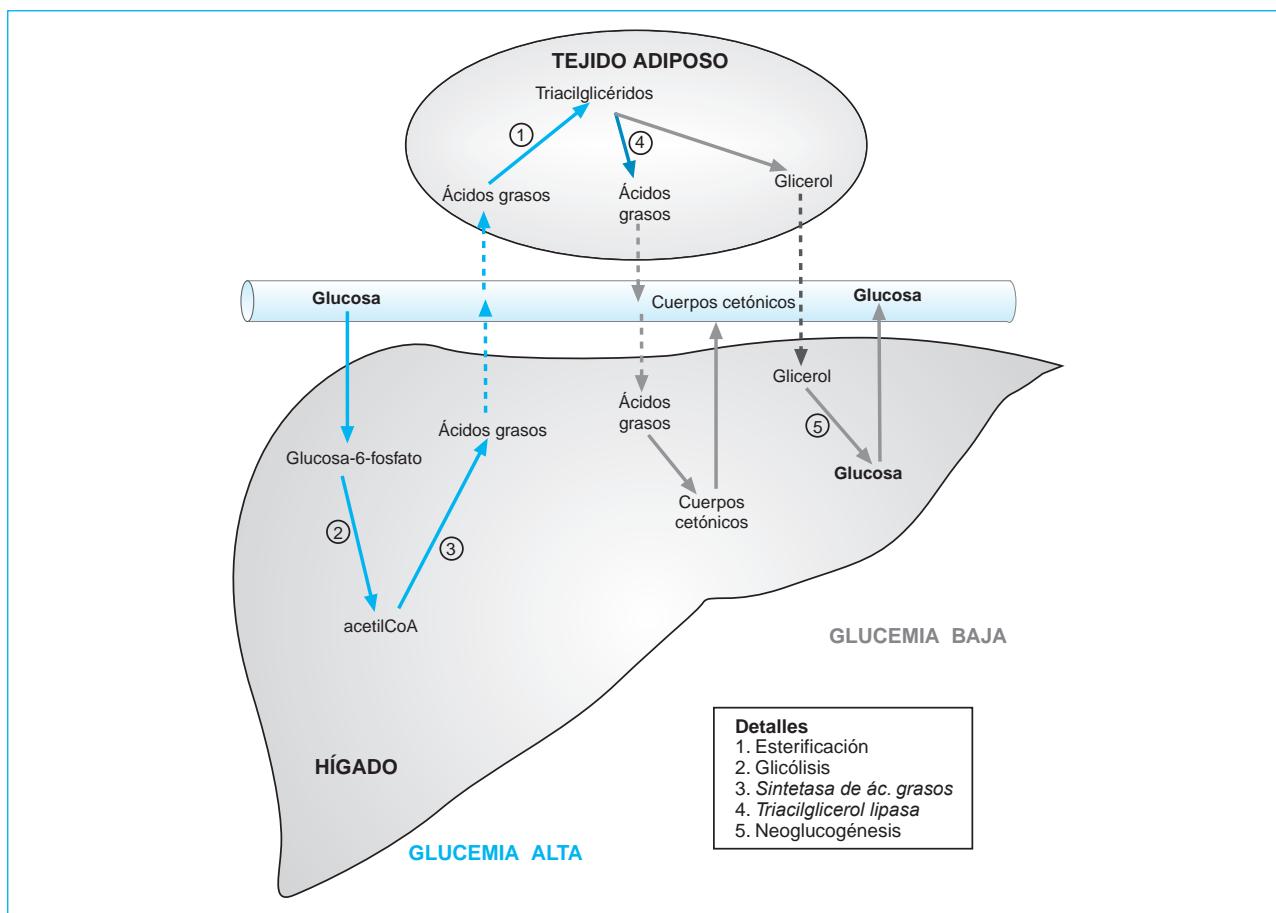


Figura 17-3. Regulación hepática del metabolismo de los lípidos. Relaciones entre el hígado y el tejido adiposo. En condiciones de glucemia alta (parte izquierda de la figura), existe una conversión neta de glucosa en ácidos grasos, que son almacenados como triacilglicéridos en el tejido adiposo. Cuando la glucemia baja (parte derecha de la figura), las grasas del tejido adiposo se movilizan y sus componentes llegan al hígado. Nótese que los ácidos grasos no dan lugar a glucosa, sino a cuerpos cetónicos.

17.3.3 El cerebro y el músculo

El cerebro es absolutamente dependiente de la glucosa como combustible. Sólo tras la adaptación que se produce en el ayuno prolongado puede utilizar, en cierta medida, los cuerpos cetónicos producidos por el hígado. Incluso en este caso, las necesidades de glucosa disminuyen, pero no desaparecen. Por el contrario, el músculo es un tejido metabólicamente versátil. En reposo, el combustible preferido son los ácidos grasos, o los cuerpos cetónicos en el caso del miocardio. Durante un ejercicio intenso, el músculo consume preferentemente glucosa. Si el ejercicio transcurre en condiciones anaerobias, se forma lactato que puede ser transformado en glucosa por el hígado, al igual que ocurre con la alanina producida a partir del exceso de piruvato (véase el Cap. 14). Durante el ayuno prolongado, las proteínas del músculo pueden degradarse para dar intermedios gluconeogénicos.

17.4 INTEGRACIÓN DEL METABOLISMO DE LOS HIDRATOS DE CARBONO Y DE LAS GRASAS

Las principales reservas del organismo son el glucógeno del hígado y los triacilglicéridos del tejido adiposo. La cooperación entre el hígado y el tejido adiposo constituye, por tanto, un buen ejemplo de integración metabólica. Su finalidad es optimizar la acumulación de reservas cuando sobran nutrientes, y proporcionar combustibles durante el ayuno, manteniendo la glucemia relativamente constante. En general, en los distintos tejidos, la velocidad de utilización de la glucosa por una parte y de los combustibles metabólicos derivados de las grasas (ácidos grasos y cuerpos cetónicos), por otra, varía inversamente. Cuando la glucosa es escasa, la disponibilidad de combustibles grasos en la sangre y su utilización por los tejidos aumenta: la glucosa se reserva para el cerebro. Esta regulación se realiza, esencialmente, a través de la modifica-

ción de la actividad de dos enzimas clave, *fosfofructoquinasa* hepática, y *triacilglicerol lipasa* del tejido adiposo, y será más fácil de comprender si consideramos dos situaciones metabólicas opuestas: un déficit calórico provocado por el ayuno, y una situación posprandial y de reposo, con una disponibilidad de nutrientes superior a la demanda energética.

17.4.1 Integración del metabolismo de las grasas y los hidratos de carbono en condiciones de déficit de aporte de nutrientes

En condiciones de glucemia baja, las hormonas lipolíticas, como glucagón o adrenalina predominan en la sangre. Estas hormonas activan *TAG lipasa* del tejido adiposo, que催化iza una hidrólisis rápida de los triacilglicéridos, con liberación de glicerol y ácidos grasos al torrente circulatorio. El hígado utiliza el glicerol como precursor gluconeogénico. La disponibilidad de ácidos grasos en sangre tiene, al menos, dos consecuencias: estimula su utilización como nutrientes en muchos tejidos, especialmente en el músculo, y activa su transformación hepática en cuerpos cetónicos. La concentración sanguínea de cuerpos cetónicos crece, lo que favorece su utilización por tejidos como el intestino, el músculo, el riñón o la glándula mamaria e, incluso, el cerebro, tras un período de adaptación. La consecuencia inmediata de la uti-

lización masiva y ubicua de combustibles grasos es la inhibición del consumo de glucosa, que se reserva para el cerebro. Los mecanismos que explican la inhibición de la glicólisis por combustibles grasos son esencialmente tres (Fig. 17-4).

Inhibición alostérica de la PFK por citrato

La producción elevada de acetilCoA a partir de combustibles grasos provoca una conversión masiva de oxalacetato en citrato, a través de la primera reacción del ciclo de los ácidos tricarboxílicos, catalizada por *citrato sintasa*. El aumento en la concentración de citrato inhibe *PFK*. En consecuencia, el sustrato de *PFK*, fructosa-6-fosfato, se acumula en la célula.

Inhibición de la hexoquinasa

La reacción de interconversión de glucosa-6-fosfato en fructosa-6-fosfato, catalizada por *hexosa fosfato isomerasa*, está próxima al equilibrio en condiciones normales, y se verifica en un sentido u otro dependiendo de las concentraciones relativas de las dos hexosas-fosfato. Cuando se acumula fructosa-6-fosfato, la *fosfoglucomutasa* cataliza su transformación en glucosa-6-fosfato. Por tanto, la inhibición de *PFK* provoca un aumento de la concentración intracelular de glucosa-6-fosfato. Como la *hexoquinasa* se inhibe por el producto de la reacción, la inhibición de *PFK* acarrea una inhibición secundaria de *hexo-*

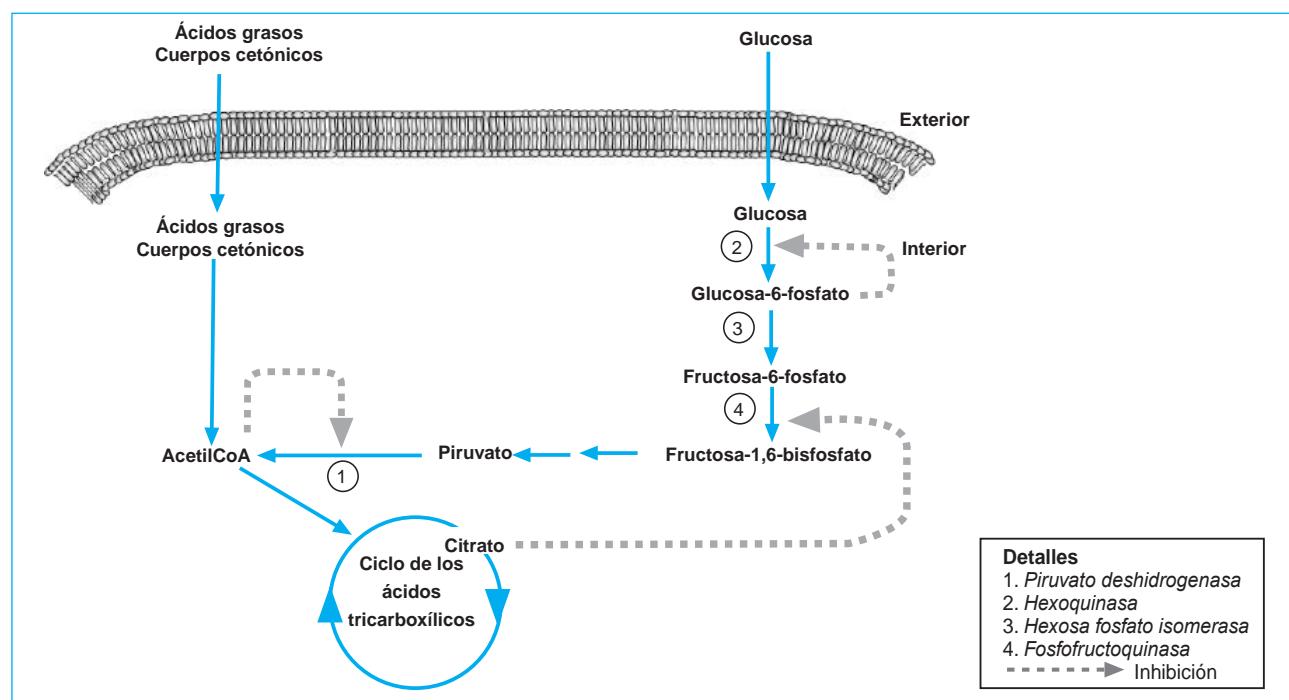


Figura 17-4. Relaciones entre el metabolismo de los combustibles lipídicos y los hidratos de carbono. Inhibición, por la movilización de los ácidos grasos, del consumo de glucosa. La regulación de las enzimas reseñadas por intermediarios metabólicos clave explica, en gran parte, la inhibición del consumo de glucosa que se produce como consecuencia de la movilización de las reservas lipídicas.

quinasa que se traduce, en última instancia, en una disminución de la captación neta de glucosa por los tejidos. La glucosa sérica queda reservada para aquellos tejidos que, como el cerebro, la siguen consumiendo activamente.

Inhibición de la piruvato deshidrogenasa

La producción elevada de acetilCoA a partir de combustibles lipídicos produce un aumento de la relación molar de acetilCoA a CoA libre, que determina la inhibición de la descarboxilación del piruvato catalizada por *piruvato deshidrogenasa* (véase el Cap. 13). El piruvato puede entonces utilizarse en la gluconeogénesis. En el músculo, se transforma por transaminación en alanina, que es transportada al hígado, y transformada en glucosa.

Estos efectos inhibidores del consumo de glucosa ejercidos por la abundancia en sangre de los combustibles derivados de las grasas, completan la acción del glucagón sobre el metabolismo hepático de los hidratos de carbono y permiten un control más estricto de la glucemia.

17.4.2 Integración del metabolismo de las grasas y los hidratos de carbono en condiciones de abundancia de nutrientes

Cuando la concentración sérica de glucosa es elevada, como después de una comida, los niveles de las hormonas lipolíticas se encuentran al mínimo y se activa la secreción de insulina por el páncreas. La insulina tiene un efecto antilipolítico potente en el tejido adiposo. La inhibición de la degradación de triacilglicéridos hace caer la concentración sérica de ácidos grasos, por lo que la síntesis hepática de los cuerpos cetónicos es mínima. La ausencia de combustibles grasos anula los mecanismos de inhibición del consumo y captación de glucosa por los tejidos, descritos anteriormente, y la glicólisis transcurre normalmente. En el músculo, cuando se ha alcanzado una carga energética celular elevada, el ATP inhibe la glicólisis, y parte de la glucosa captada se almacena como glucógeno. En el hígado, la glucosa se almacena como glucógeno rápidamente movilizable, o entra en la glicólisis para ser transformada en acetilCoA. El acetilCoA, además de alimentar el ciclo de los ácidos tricarboxílicos, sirve como sustrato para la síntesis de los ácidos grasos, que serán enviados, vía VLDL, al tejido adiposo para su almacenamiento. En estas condiciones, parte del exceso de los hidratos de carbono se convierte en reservas grasas del tejido adiposo.

17.5 ADAPTACIÓN METABÓLICA AL AYUNO

En el ayuno, el perfil metabólico del organismo se adapta para mantener la glucemia constante. La mayoría de los mecanis-

mos implicados ya han sido expuestos, y se ponen en marcha, esencialmente, en respuesta a la presencia en la sangre de glucagón y la desaparición de insulina. Los principales son:

- Movilización del glucógeno hepático. Sin embargo, las reservas de glucosa en forma de glucógeno hepático son limitadas y apenas permiten mantener la glucemia normal durante algunas horas, incluso para un nivel restringido de actividad.
- Activación de la gluconeogénesis hepática, utilizando el glicerol de las reservas del tejido adiposo, y el piruvato, el lactato y la alanina procedentes del músculo.
- Movilización de las reservas lipídicas, e inhibición por ácidos grasos y cuerpos cetónicos de la captación y el consumo de glucosa por los tejidos.

En conjunto, estos mecanismos son muy eficaces para el control de la glucemia. Muchos de ellos están mediados directa o indirectamente por la *proteína quinasa activada por AMP* (AMPK), que se activa en condiciones de carga energética celular baja (Recuadro 17-1). Como se observa en la Tabla 17-1, tras la caída inicial que determina los cambios en la secreción de insulina y glucagón, la glucosa permanece relativamente constante, dentro de unos márgenes suficientes para las necesidades del cerebro.

Ello se debe a que muchos órganos dejan de consumir glucosa, y al aumento de la gluconeogénesis hepática. Como algunos precursores gluconeogénicos proceden de las proteínas musculares, el ayuno conlleva una pérdida de masa muscular, además de una disminución de las reservas lipídicas. Este efecto se limita por la lenta adaptación metabólica del cerebro al consumo de cuerpos cetónicos. A los veinte días de ayuno, el cerebro ha reducido su dependencia de la glucosa, hasta aproximadamente la mitad de la demanda normal. Ello explica que la pérdida de proteína muscular por unidad de tiempo sea menor tras varias semanas de ayuno que en los primeros días. El organismo también recurre a la proteína muscular como fuente de nutrientes en otras situaciones extremas, como en respuesta a un traumatismo grave (Recuadro 17-2).

Tabla 17-1. Concentraciones séricas (mM) de combustibles metabólicos en el ayuno

Días de ayuno	Glucosa	Cuerpos cetónicos	Ácidos grasos
0	5.5	0.01	0.3
2	4.3	0.55	0.82
4	3.8	2.90	1.1
8	3.6	5.34	1.9

Recuadro 17-1.
LA PROTEÍNA QUINASA ACTIVADA POR AMP Y LA RELACIÓN ENTRE EL ESTADO METABÓLICO Y LA PROLIFERACIÓN CELULAR

Intuitivamente, parece lógico suponer que en condiciones de aporte energético limitado y déficit de nutrientes, una célula debe dejar de dividirse y proliferar. Pero los mecanismos moleculares que relacionan el estado metabólico y la proliferación sólo han comenzado a comprenderse muy recientemente. En la integración entre metabolismo y proliferación, la *quinasa activada por AMP* (*AMPK*) juega un papel esencial. La *AMPK* se activa cuando la relación AMP/ATP es alta, es decir cuando la carga energética celular es baja. Por tanto, *AMPK* es activa en condiciones de aporte energético limitado. Tras su activación por AMP, *AMPK* inhibe numerosos procesos anabólicos. Por ejemplo, fosforila e inhibe la *acetilCoA carboxilasa*, limitante de la biosíntesis de los ácidos grasos, la *hidroximetilglutarilCoA reductasa*, limitante de la síntesis del

colesterol y la *glucógeno sintasa*, responsable del almacenamiento de glucosa en forma de glucógeno. Además, la activación de *AMPK* regula la expresión de muchos genes que codifican proteínas clave del metabolismo, y por ejemplo suprime la expresión de muchos genes lipogénicos. Por tanto, *AMPK* es un regulador metabólico clave, implicado en la adaptación a la limitación de nutrientes. Dada su importancia, la actividad de *AMPK* está estrechamente regulada. De hecho, la activación por AMP no es directa. La unión del nucleótido favorece la fosforilación de *AMPK* por otra *proteína quinasa*, originalmente conocida como *AMPKK* (*quinasa de la quinasa dependiente de AMP*) e inhibe su desfosforilación por *fosfatasas*. Puesto que *AMPK* activa es su forma fosforilada, el efecto neto del AMP es una fuerte activación de la *quinasa*. Recientemente, ha sido posible identificar *AMPKK*, que es el producto de un gen denominado *lkb1*, mutado en el síndrome de Peutz-Jeghers (SPJ), en el que existe una predisposición a la aparición precoz de tumores, sobre todo, del tracto gastrointestinal. El gen *lkb1*

es un supresor tumoral, o antioncogén, que frena el crecimiento celular, lo que da cuenta de la mayor incidencia de tumores en individuos portadores y mutaciones con pérdida de función en este gen. La proteína codificada por el gen, la LKB1, es una *quinasa* que, en su forma activa, promueve la fosforilación de *AMPK*, a la vez que inhibe la proliferación, al fosforilar proteínas clave en la regulación del ciclo celular. Así, al actuar como *AMPKK* por un lado, y como regulador negativo del ciclo celular, por otro, LKB1 explica, al menos parcialmente, la integración del metabolismo general y la proliferación celular.

La participación de LKB1 en estos procesos centrales para la célula la convierten en una diana de elección para el desarrollo de nuevos fármacos. Por ejemplo, activadores farmacológicos de LKB1 podrían ser útiles en el tratamiento de tumores del tracto gastrointestinal. Al potenciar una activación secundaria de *AMPK*, y subsiguientemente, una inhibición de los procesos anabólicos, también podrían ser útiles en el tratamiento de algunas formas de obesidad.

17.6 METABOLISMO EN LA DIABETES MELLITUS DE TIPO I DEPENDIENTE DE INSULINA

La diabetes mellitus dependiente de insulina cursa con hiperglucemia, niveles séricos elevados de cuerpos cetónicos que producen acidosis, poliuria, que puede conducir a deshidratación, con niveles elevados de glucosa y cuerpos cetónicos en la orina, adelgazamiento y debilitación crecientes. La causa de la enfermedad es una lesión irreversible de las células pancreáticas productoras de insulina, debida a factores genéticos, infecciones virales o respuestas autoinmunitarias. Los síntomas de la enfermedad se explican por un fallo general del control del metabolismo, debido a falta de insulina. El déficit de insulina determina que el metabolismo se encuentre adaptado al consumo de ácidos grasos y cuerpos cetónicos, incluso cuando hay glucosa disponible. La inhibición de la captación y el consumo de glucosa provoca una hiperglucemia constante, con importantes efectos adversos como la glucosilación de hemoglobina y otras proteínas, o la aparición de cataratas. Además, la falta de insulina estimula la glucogenólisis y la

gluconeogénesis hepática, de forma que hay una liberación neta de glucosa por el hígado, incluso en condiciones de hiperglucemia. La elevación de los niveles séricos de glucosa y cuerpos cetónicos provoca el paso de los mismos a la orina. Ello produce, por un efecto osmótico, la salida de agua, lo que explica la poliuria observada en la diabetes, que puede conducir a deshidratación y colapso. La presencia excesiva de cuerpos cetónicos en la sangre ocasiona cetoacidosis (véase el Cap. 15). Por tanto, la mayor parte de los síntomas clínicos del paciente diabético se explican mediante los conceptos de integración metabólica estudiados en este capítulo.

Los pacientes diabéticos dependientes de insulina responden a la administración de insulina exógena con una normalización de la glucemia y de los niveles de ácidos grasos y cuerpos cetónicos en sangre. Desde que se descubrió la insulina y se generalizó su uso, se ha rebajado la mortalidad por coma cetónico asociada a la diabetes desde el 50% hasta el 1%. Sin embargo, la enfermedad presenta una serie de complicaciones a largo plazo que siguen sin resolverse. El Recuadro 17-3 se refiere a una de las complicaciones de la diabetes, el pie diabético.

Recuadro 17-2.**RESPUESTAS METABÓLICAS TRAS LOS TRAUMATISMOS GRAVES**

En los países desarrollados, los traumatismos son la principal causa de mortalidad en individuos menores de 45 años, y un factor importante de morbilidad en los ancianos. Desde el punto de vista de la integración metabólica, la fase aguda que sigue a un traumatismo constituye una situación muy compleja y paradójica, en la que los mecanismos de homeostasis cooperan para producir una movilización de combustibles exagerada y una hiperglucemia que puede llegar a ser considerable.

En las primeras horas tras un traumatismo, se detectan cambios importantes en los niveles de hormonas clave

para la integración metabólica. El hipotálamo activa la secreción del factor de liberación de corticotropina, que a su vez induce la liberación de ACTH por la pituitaria. ACTH estimula la secreción adrenal de cortisol. Como el resto de los glucocorticoides, el cortisol tiende a elevar la glucosa plasmática al estimular la gluconeogénesis. Este efecto está potenciado por la activación por cortisol de la degradación de proteínas intracelulares. El catabolismo proteico acelerado acarrea una pérdida de masa muscular, típica de las situaciones posttraumáticas, y proporciona precursores gluconeogénicos derivados de los aminoácidos.

El cortisol no es la única hormona responsable de la hiperglucemia posttraumática. Los niveles de adrenalina, noradrenalina y dopamina aumentan también rápidamente, en una medida

que se relaciona con la gravedad del trauma. La elevación de las catecolaminas tiene importantes consecuencias metabólicas, directas e indirectas. Activa la degradación del glucógeno y la movilización de las reservas lipídicas, con lo que se elevan las concentraciones séricas de glucosa, ácidos grasos y glicerol (otro precursor gluconeogénico). Además, la adrenalina inhibe la secreción de insulina por el páncreas y estimula la de glucagón, incluso en las condiciones de hiperglucemia descritas, lo que potencia los efectos anteriores.

El patrón de movilización de combustibles metabólicos en la fase posttraumática aguda varía, entre otros factores, con la edad. La movilización de los combustibles grasos y la pérdida de masa muscular son mayores en los ancianos, mientras que la hiperglucemia está exacerbada en los niños.

Recuadro 17-3.**EL PIE DIABÉTICO:
UNA DISFUCIÓN HORMONAL**

La estructura de los tejidos de sostén está garantizada, no sólo por los genes de las proteínas estructurales y de proteínas que conducen a su maduración (véase el Cap. 34), sino también por un correcto equilibrio hormonal, nutricional y metabólico que asegure la homeostasia de los espacios extracelulares. Las alteraciones en estos procesos conducen a estados patológicos que, en algunos casos, pueden repercutir gravemente en las estructuras de soporte. A este tipo de alteración pertenece el pie diabético que desarrollan algunos enfermos de diabetes.

La diabetes es una enfermedad que se caracteriza por hiperglucemia debida a una deficiencia en la función de la insulina, ya sea por carencia de la propia insulina o por alteraciones en la respuesta celular a la misma. El pie diabético, que se manifiesta con hemorragias o ulceraciones en las extremidades inferio-

res, a menudo se acompaña de *hiperalgesia* (excesiva sensibilidad al dolor) o *parestesia* (conjunto de anomalías sensitivas, como cosquilleos o pérdida de sensibilidad al dolor). Estos problemas, en realidad, forman parte de la neuropatía diabética y están asociados a la degeneración de fibras nerviosas sensitivas y motoras. La insulina no tiene un efecto directo sobre el mantenimiento de estas fibras, pero entre los factores *tróficos* del sistema nervioso tiene un papel muy importante una proteína estructuralmente relacionada con la insulina, denominada *IGF* (factor de crecimiento parecido a la insulina, del inglés, *insulin-like growth factor*). Existen esencialmente dos isoformas de IGF (IGF-1 e IGF-2). En algunas formas de diabetes hay una alteración no sólo de la insulina, sino también del IGF-1. Ésta podría ser una explicación para la aparición de la neuropatía, incluso en casos de diabetes con una glucemia bien controlada.

Estas neuropatías asociadas a la diabetes no bastan para explicar la fre-

cuencia de ulceraciones en los dedos y plantas del pie o en los tobillos, que pueden llegar a evolucionar hasta gangrena. La afectación puede centrarse en un dedo o extenderse a todo el pie, y la única solución puede ser la amputación. Otra complicación común en la diabetes es la llamada *caída de la muñeca o del tobillo*. Para explicar estos problemas de ulceraciones y laxitud tendinosa hay que recordar que en el proceso de maduración del colágeno se produce una glicosilación de los residuos de hidroxilisina de las cadenas polipeptídicas del tropocolágeno. Dicha glicosilación es lenta, pero proporcional a la concentración circulante de glucosa. Por ello, en el diabético, el colágeno suele estar más glicosilado, lo que da lugar a que los vasos sanguíneos sean más frágiles y ello repercute en la composición de los ligamentos y tendones, sobre todo en las zonas más sometidas a presión mecánica, originando la laxitud y ulceraciones antes comentadas.

RESUMEN

- Las vías metabólicas están reguladas de forma coordinada para asegurar un buen aprovechamiento de los recursos energéticos y materiales, y una cooperación efectiva entre los distintos órganos y tejidos.
- El control de la velocidad de las vías metabólicas se realiza normalmente a nivel de la reacción más lenta de la vía (etapa limitante del flujo), que suele coincidir con una reacción irreversible situada al inicio de la vía.
- Las enzimas limitantes del flujo se regulan mediante efectores alostéricos o por cambios en su estado de fosforilación, controlados hormonalmente.
- Este tipo de mecanismos explican la inhibición generalizada del consumo de glucosa cuando la disponibilidad de combustibles de origen lipídico es alta.
- Los distintos órganos poseen perfiles metabólicos diferenciados.
- El hígado regula la glucemia a través de cambios en la velocidad de las vías de síntesis o degradación del glucógeno, y de la gluconeogénesis. Además, coopera con el tejido adiposo en la deposición o movilización de reservas grasas.
- El tejido adiposo contiene la mayoría de las reservas energéticas. Proporciona combustibles lipídicos y el precursor gluconeogénico glicerol, cuando la glucemia es baja.
- El cerebro es dependiente de glucosa, y sólo se adapta parcialmente al consumo de otros combustibles tras un ayuno prolongado.
- El músculo es metabólicamente versátil. Puede consumir muchos tipos de combustibles metabólicos y cooperar con la gluconeogénesis hepática.
- En el ayuno prolongado, la integración metabólica permite mantener niveles de glucosa sérica suficientes para el consumo cerebral y una glucemia relativamente constante.
- La mayoría de los síntomas de la diabetes mellitus dependiente de insulina puede explicarse en términos de la incapacidad del organismo de integrar adecuadamente el metabolismo energético.

EVALUACIÓN

1. (A). Reservas energéticas del organismo:
- La movilización del glucógeno hepático permite mantener la glucemia normal al menos durante 48 horas, en condiciones de ejercicio moderado.
 - Las reservas del glucógeno cerebral cubren las necesidades energéticas del cerebro en los primeros días de ayuno.
 - Aunque, cuantitativamente, la reserva de glucosa en forma de glucógeno es superior en el músculo que en el hígado, el glucógeno muscular no contribuye al control de la glucemia en el ayuno.
 - La reserva energética en forma de triacilglicéridos del tejido adiposo es inferior cuantitativamente a las reservas del glucógeno.
 - Las proteínas del tejido muscular son la primera reserva energética utilizada en el ayuno.
2. (B). Capacidades metabólicas de los órganos:
- Tras un ayuno prolongado, el cerebro es capaz de obtener más del 25% de la energía que necesita a partir de los cuerpos cetónicos.
 - El tejido adiposo es el principal responsable de la síntesis de los cuerpos cetónicos circulantes.
 - Los cuerpos cetónicos son el combustible metabólico habitual de algunos tejidos, como el miocardio.
 - Debido a su dependencia de glucosa como fuente de energía, la gluconeogénesis es un proceso muy activo en el cerebro.
- a b c d e
3. (B). Integración del metabolismo de grasas e hidratos de carbono:
- Los triacilglicéridos del tejido adiposo no aportan ningún precursor gluconeogénico en condiciones de ayuno.
 - En el ayuno, la elevación de los niveles séricos de los cuerpos cetónicos inhibe el consumo de glucosa por los tejidos periféricos.
 - El acetilCoA procedente de la degradación de los ácidos grasos puede transformarse en glucosa tras su carboxilación para rendir piruvato.
4. Una concentración elevada de acetilCoA en el hepatocito inhibe la actividad de la enzima *piruvato deshidrogenasa*.
- a b c d e
5. (C). El citrato no puede ser un efector alostérico de la *fosfofructoquinasa (PFK)*, PORQUE la *PFK* es una enzima glicolítica y, por tanto, citoplasmática, mientras que el citrato es un metabolito del ciclo de los ácidos tricarboxílicos y, por tanto, intramitochondrial.
- a b c d e
6. (B). Regulación de la disponibilidad de combustibles metabólicos por el hígado:
- El hígado es incapaz de catabolizar aminoácidos para la obtención de energía metabólica.
 - La conversión de cuerpos cetónicos en glucosa asegura el mantenimiento de la glucemia en el ayuno prolongado.
 - La *piruvato deshidrogenasa* cataliza una reacción reversible.
 - El acetilCoA es un inhibidor alostérico de *fosfofructoquinasa*.
- a b c d e
7. (A). Señálese la contestación incorrecta. La diabetes mellitus dependiente de insulina cursa con:
- Poliuria.
 - Pérdida de iones por la orina.
 - Gluconeogénesis hepática, incluso en condiciones de hiperglucemia.
 - Alcalosis.
 - Movilización permanente de grasas del tejido adiposo.

BIBLIOGRAFÍA

- Grunstein M: Las histonas: proteínas reguladoras de genes. *Inv y C* 1987; diciembre: 44-49.
- Kyriakis JM: At the crossroads: AMP-activated kinase and the LKB1 tumor suppressor link cell proliferation to metabolic regulation. *Journal of Biology* 2003; 2: 26.
- Rodríguez-Caso C, Sánchez-Jiménez F, Medina MA: A Modeling and Simulation Approach to the Study of Metabolic Control Analysis. *Biochem Mol Biol Educ* 2002; 30: 169-171.
- Papin JA, Price ND, Wiback SJ *et al*: Metabolic pathways in the post-genome era. *TiBS* 2003; 28: 250-258.
- Wolfe RR: Metabolic interactions between glucose and fatty acids in humans. *Am J Clin Nutr* 1998; 67(3 Suppl): 519S-526S.

PARTE II

BIOLOGÍA Y PATOLOGÍA MOLECULAR

Sección IV: *La información genética*

Sección V: *Genoma, patología molecular y terapia génica*

Sección VI: *Biología molecular y celular*

SECCIÓN IV

LA INFORMACIÓN GENÉTICA

- Capítulo 18:** La organización del material genético
- Capítulo 19:** Biosíntesis del ADN: replicación, recombinación y reparación
- Capítulo 20:** Síntesis del ARN: transcripción
- Capítulo 21:** Biosíntesis de las proteínas: traducción
- Capítulo 22:** Regulación de la expresión génica

LA ORGANIZACIÓN DEL MATERIAL GENÉTICO

18.1 FLUJO DE INFORMACIÓN EN LOS SERES VIVOS

En los seres vivos, la información almacenada en el ADN sirve para la síntesis de proteínas específicas, existiendo un flujo de información que va desde las secuencias codificadoras del ADN a las de las proteínas, a través de la síntesis de moléculas intermedias de ARNm, portadoras de la información de una parte reducida del *genoma* (por genoma se entiende toda la información genética contenida en una célula, incluyendo los genes y todas las secuencias de ADN). Este camino se puede considerar dividido en dos etapas: *transcripción* y *traducción* (Fig. 18-1a). En la primera, la información de una determinada parte del genoma, escrita como una secuencia de cuatro bases en el ADN, es copiada bajo la forma de una molécula de un material muy parecido, el ARNm, la cual presenta una secuencia de bases similar a la copiada (con la excepción de U, en lugar de T).

Con esta copia, en un segundo proceso denominado traducción, la información secuencial de las bases en el ARNm va a servir para la síntesis de una cadena polipeptídica, den-

tro de la cual el orden de aminoácidos refleja la sucesión de bases en la molécula de mensajero. La lectura de la secuencia de bases se realiza en conjuntos de tres bases o unidades de codificación (codones), denominándose código genético la relación existente entre los diferentes codones y los veinte aminoácidos proteicos (véase el Cap. 21). En definitiva, la existencia de una proteína determinada en el interior de una célula es la consecuencia de la expresión de un gen concreto, a través de las etapas anteriormente comentadas.

La transmisión de la información genética entre las diversas generaciones celulares requiere la duplicación del material genético, por medio de un proceso de copia o replicación del ADN. Por tanto, los procesos de replicación, transcripción y traducción son fundamentales para el mantenimiento del *flujo de la información genética*.

La información genética de muchos virus está también codificada por el ADN, y sigue mecanismos de expresión similares a los utilizados por el ADN celular. Sin embargo, existen virus con un genoma de ARN, que sirve para la síntesis de proteínas y para su replicación sin el concurso del ADN, transmitiéndose la información de ARN a ARN (replicación de ARN). Igualmente, existen virus ARN en los que las vías del flujo de la información genética incluyen la síntesis de ADN a partir de ARN. Esta reversión del flujo de información se conoce con el nombre de transcripción inversa (Fig. 18-1b). No se conoce, sin embargo, ningún sistema biológico en el que la información almacenada en una proteína sirva para la síntesis de un ácido nucleico, aunque hay que tener siempre presente que el flujo de información genética requiere de la presencia de proteínas enzimáticas y reguladoras que dirijan y controlen estos procesos.

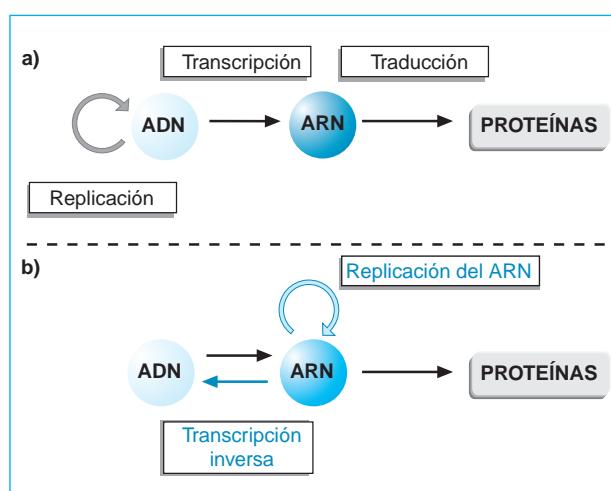


Figura 18-1. Flujo de información genética en los seres vivos. a) Vías principales de acuerdo con el dogma central de Crick. b) Vías minoritarias.

18.2 ESTRUCTURA DE LOS GENES

El concepto de *gen* ha ido variando con el tiempo y, a medida que se ha ido ampliando el conocimiento acerca de la estructura de los genes, resulta cada vez más complicado hacer una definición molecular de aplicación general. Inicialmente, un gen era un concepto abstracto que correspondía a una unidad de información heredada. El concepto

posterior de gen como segmento de ADN que codifica una proteína, aunque correcto, es incompleto, ya que existen genes que codifican moléculas de ARN (como los ARNr o ARNt), pero no polipéptidos, si bien estos ARN son básicos para la síntesis de las proteínas celulares.

La constatación, a finales de los años setenta, de que los genes de los eucariotas no eran necesariamente un segmento único y continuo de ADN, como ocurre en los genes de procariotas, sino que, a menudo, la región codificadora de ADN es discontinua, estando interrumpida por segmentos de ADN no codificador, vino a poner de manifiesto las claras diferencias existentes entre la estructura de los genes de los procariotas y de los eucariotas. Los genes de los organismos eucarióticos están, por tanto, formados por una serie de secuencias codificadoras denominadas *exones*, separadas por un conjunto de segmentos no codificadores llamados *intrones* (Fig. 18-2). En realidad, los exones corresponden a las secuencias que no se eliminan durante el

proceso de maduración del ARNm y que permanecen en el mismo. Cabe matizar que en los exones extremos (primer y último) existen regiones no codificantes y que corresponden con las denominadas *regiones terminales no traducidas* (UTR).

En su mayor parte, los genes de los mamíferos son fragmentados, siendo el número de intrones por gen, así como la longitud de los intrones, muy variables. En algunos genes humanos, el número de intrones es muy bajo (dos intrones en los genes de las globinas o cuatro en el gen de la eritropoyetina), mientras que otros poseen gran número de intrones (el factor de coagulación VIII, 25; la tiroglobulina, más de 40 y la distrofina, más de 60). La longitud de los intrones y exones es variable. En general, la cantidad de ADN de los intrones de un gen es mayor que la de los exones, pudiendo llegar a ser, en algunos genes, hasta 100 veces superior. Los exones son, por tanto, más cortos que los intrones, aunque en algunos casos tienen una longitud considerable (el exón humano más largo pertenece al gen de la apolipoproteína B-100 y tiene alrededor de 7500 pares de bases).

El gen comprende, pues, toda la región transcrita (unidad de transcripción), que incluye las secuencias codificadoras contenidas en los exones, todos los intrones y las regiones flanqueantes 5' y 3' de la región codificadora que forman parte del primer y último exón, respectivamente. Las secuencias reguladoras, tanto las próximas a la región transcrita, como las situadas a miles de pares de bases (como las secuencias intensificadoras o potenciadoras) también se consideran como partes integrantes del gen.

El tamaño de los genes de los organismos procarióticos es menor que el de los genes de los eucariotas. En algunos casos, varios genes procariotas adyacentes forman parte de una misma unidad de transcripción, transcribiéndose conjuntamente, dando lugar a un ARNm policistrónico, que lleva la información para la síntesis de varias proteínas.

Un gen promedio de procariota tiene una longitud aproximada de 1 kb, mientras que en los eucariotas sólo los genes más pequeños y que no contienen intrones (por ejemplo, interferones α y β o histonas) tienen ese tamaño. La mayoría de los genes de eucariotas tiene longitudes de varias kilobases (un gen promedio tiene unas 27 kb), siendo el gen de la distrofina, cuya alteración produce la distrofia muscular de Duchenne, el gen humano más largo de los conocidos, con una longitud de alrededor de 2000 kb.

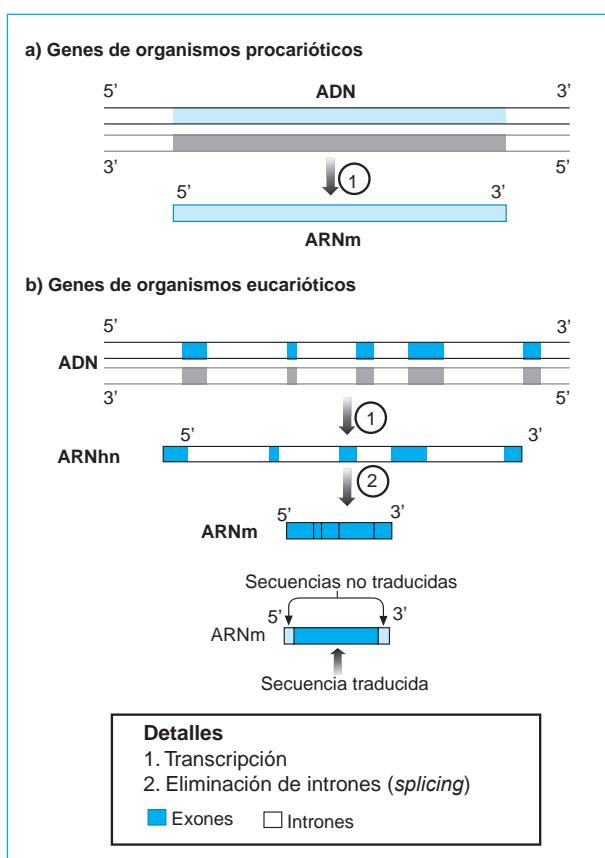


Figura 18-2. Comparación de los genes procarióticos y eucarióticos. a) Genes procarióticos no fragmentados: la mayor parte de la secuencia es codificante. b) Genes eucarióticos discontinuos o fragmentados: una parte minoritaria de la secuencia es codificante.

18.3 TAMAÑO Y ORGANIZACIÓN DEL GENOMA

El tamaño y la organización de los genomas de procariotas y eucariotas difieren markedly. La bacteria *E. coli* posee una única molécula de ADN circular de $4.2 \cdot 10^6$

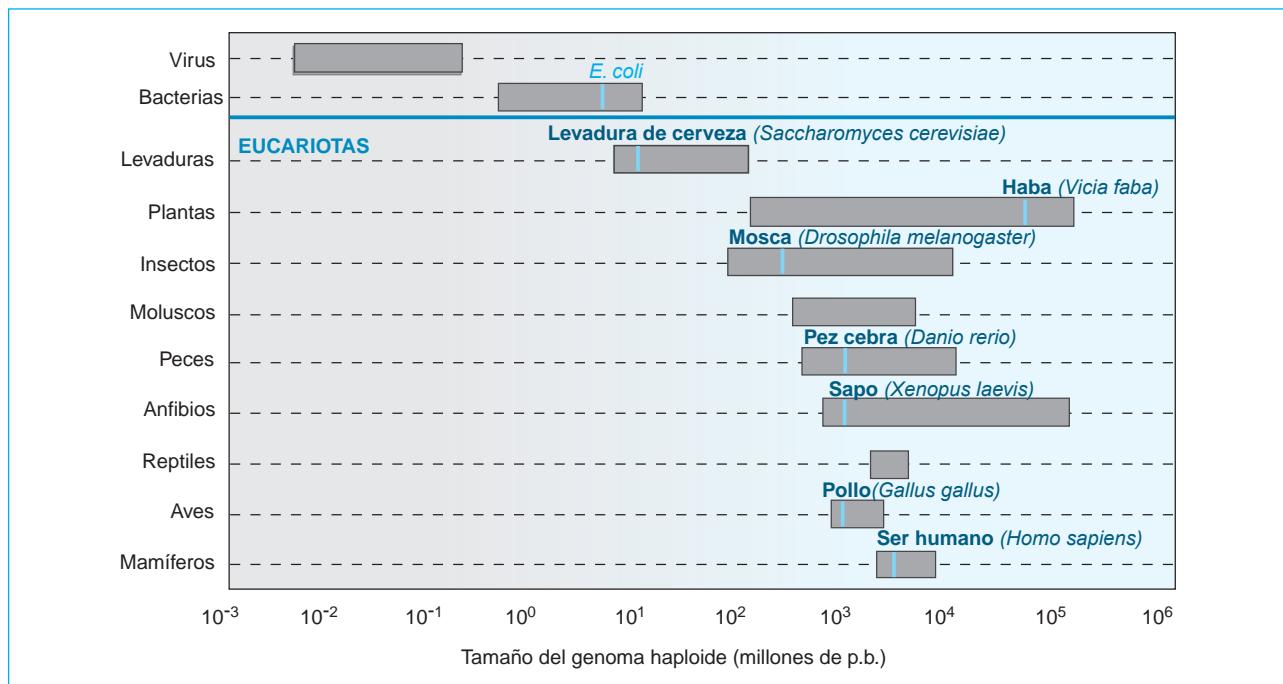


Figura 18-3. Esquema comparativo del genoma de diferentes organismos en la escala filogenética. La barra representa el rango de variación entre los diferentes miembros de cada grupo y la marca azul corresponde al tamaño de la especie indicada.

pares de bases, que sirve para codificar varios miles de proteínas diferentes (alrededor de 4000 genes, con un tamaño medio de 1 kb). La cantidad de ADN en las células eucarióticas es considerablemente mayor, siendo, por ejemplo, de $1.3 \cdot 10^7$ pares de bases en las levaduras y de alrededor a $3 \cdot 10^9$ en una célula humana haploide (Fig. 18-3). Sin embargo, el número de genes diferentes estimado en los seres humanos es alrededor de 32 000, aunque el número de proteínas sería muy superior a éste. De acuerdo con estas cifras, mientras que en las bacterias la mayor parte del ADN se puede considerar ADN codificador, en el ser humano menos del 2% del total del ADN parece tener función codificadora de las proteínas.

El ADN no codificador está formado fundamentalmente por regiones reguladoras que flanquean las regiones codificadoras, por secuencias intercaladas (intrones) que interrumpen las regiones codificadoras y por largas regiones intergénicas. Existen también regiones de secuencias parecidas a determinados genes, pero que no son funcionales (*pseudogenes*), así como un gran número de secuencias no codificadoras repetidas (desde unas pocas copias hasta millones de ellas), que se clasifican, según el número de copias, en escasa, moderada y altamente repetidas, y cuya función es poco conocida.

El ADN celular humano, al igual que el de otros organismos eucarióticos, se encuentra repartido en una serie de

moléculas diferentes de ADN de gran tamaño, localizadas en el núcleo celular, denominadas *cromosomas*. En la especie humana, la mayor parte de las células tiene 46 cromosomas, repartidos en 22 pares de cromosomas denominados *autosomas* y una pareja de *cromosomas sexuales* (XX o XY). El tamaño de cada cromosoma es variable, y sólo son visibles como estructuras individuales durante la mitosis.

A parte de por el tamaño y por la forma, los cromosomas se pueden distinguir por el patrón de bandas que producen cuando los cromosomas metafásicos son teñidos con colorantes específicos (giemsa: bandas G; quinacrina: bandas Q, etc.). Al conjunto de cromosomas se le denomina *cariotipo*. Durante la interfase, ciertas regiones de la cromatina (véase el Cap. 8) se tiñen con determinados colorantes, y se piensa que corresponden a regiones de cromatina muy empaquetada o *heterocromatina*, en contraste con otras regiones de cromatina menos empaquetada o *eucromatina*, que parece corresponder a los genes que están siendo transcritos.

Los cromosomas metafásicos visibles en el microscopio óptico están formados en realidad por dos moléculas lineales de ADN idénticas (*cromátidas hermanas*), que acaban de replicarse durante la fase S y que permanecen unidas todavía por el *centrómero*. Éste divide al cromosoma en dos brazos: corto (p) y largo (q), y en cuyos extremos se encuentran los *telómeros* (Fig. 18-4). El centrómero es indispensable para la separación de las dos cromátidas y su reparto equitativo entre

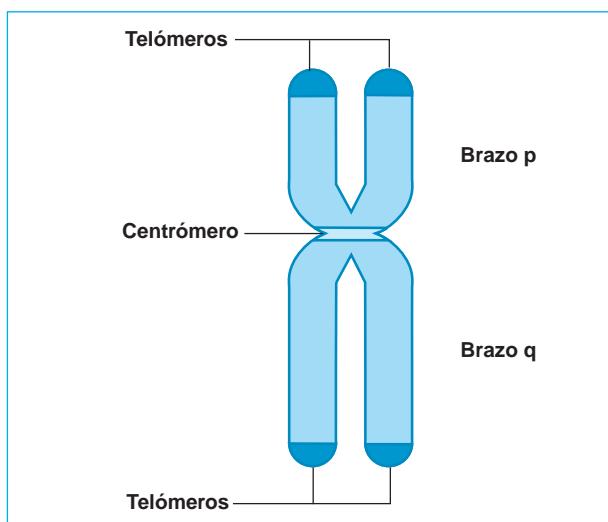


Figura 18-4. Esquema de un cromosoma metafásico en el que se muestran las dos cromátidas hermanas, el centrómero y los telómeros.

las dos células generadas por división de la célula progenitora. A las secuencias centroméricas se une una serie de proteínas características dando lugar a la formación del *cinetócoro*, estructura que es fundamental para la interacción con el huso mitótico. Los telómeros están formados por secuencias cortas repetidas centenares o miles de veces, en donde el extremo 3' de la cadena del ADN es ligeramente más largo que el 5'. Este extremo telomérico monocatenario 3' se encuentra asociado con proteínas específicas del telómero y con las secuencias teloméricas repetidas, haciendo que esta terminación de la molécula del ADN sea diferente de los extremos que se pueden formar por rotura accidental de ambas hebras de ADN.

Mientras que en las bacterias, los genes que codifican las enzimas de una determinada ruta metabólica suelen estar agrupados, ocupando posiciones adyacentes y en muchos casos formando parte de una sola unidad de transcripción, en los mamíferos los genes relacionados parecen estar más dispersos, incluso en cromosomas diferentes. Actualmente, se han localizado más de 5000 genes distintos sobre los diferentes cromosomas. Muchos genes forman parte de *familias o superfamilias génicas*. Una familia génica está integrada por un conjunto de genes que proceden de un gen ancestral común y que tienen funciones idénticas o muy parecidas (como los genes de las inmunoglobulinas).

Una superfamilia génica suele estar integrada por genes con un pasado evolutivo común, con un cierto parecido estructural, pero que realizan funciones diferentes. A veces, está integrada por varias familias génicas. Los genes de una familia pueden estar agrupados o dispersos por el genoma.

Un ejemplo interesante lo tenemos en los genes de la familia de las globinas. Todas las hemoglobinas son proteínas tetraméricas formadas por la asociación de dos tipos de globinas: globinas de tipo α y globinas de tipo β . La hemoglobina mayoritaria de los adultos es la hemoglobina A ($\alpha_2\beta_2$), existiendo una forma minoritaria, la hemoglobina A2 ($\alpha_2\delta_2$). La hemoglobina formada durante el período fetal (HbF) está formada por dos cadenas α y por dos γ ($\alpha_2\gamma_2$), mientras que en el período embrionario se producen tres hemoglobinas embrionarias ($\zeta_2\epsilon_2$), ($\zeta_2\gamma_2$) y ($\alpha_2\epsilon_2$). Los genes de la globina del tipo α se encuentran agrupados en forma de racimo en el brazo corto del cromosoma 11 (Fig. 18-5). Todos estos genes tienen un tamaño y una estructura similares (tres exones y dos intrones), y están situados en un orden que corresponde al patrón de expresión temporal. Los genes de la globina de tipo β presentan una organización similar, pero se encuentran localizados en el cromosoma 16. En ambos agrupamientos existen pseudogenes ($\Psi\alpha$, $\Psi\beta$ y $\Psi\zeta$).

La mayor parte de los genes que codifican proteínas tienen una sola copia por genoma haploide. Sin embargo, algunos genes se encuentran agrupados y repetidos en el genoma, como es el caso de los genes de las histonas (véase el Cap. 8), de los que existen alrededor de una docena de copias. Los genes que codifican ARNr y ARNt también se encuentran repetidos en el ser humano: las regiones que codifican los ARNr, 18 S, 5.8 S y 28 S están agrupadas en

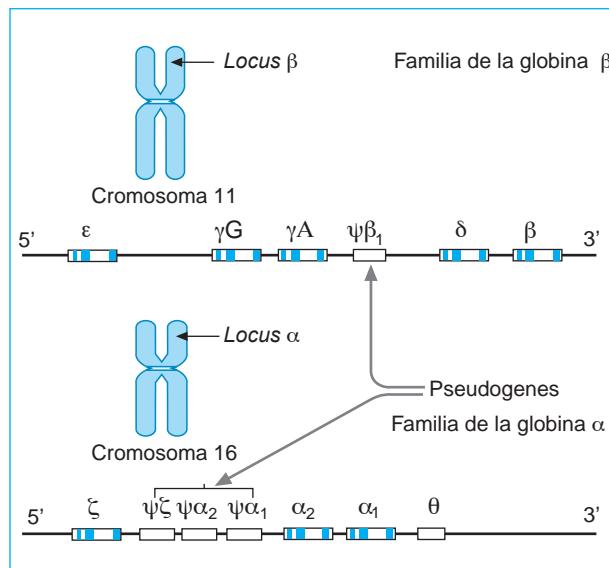


Figura 18-5. Agrupamiento de los genes de la familia de las globinas en los seres humanos. Parte superior: agrupamiento de los 5 genes de las globinas de tipo β y de un pseudogén en el cromosoma 11. Parte inferior: agrupamiento de genes y pseudogenes de globinas de tipo α . Nótese que el gen de la globina α está duplicado.

una sola unidad de transcripción, que se repite decenas de veces en forma de *tándem* en varios cromosomas diferentes, formando una serie de protuberancias en los extremos de los brazos cortos de los cromosomas 13, 14, 15, 21 y 22, que se asocian para organizar el nucleolo. Los genes que codifican el ARNr 5 S también se encuentran repetidos en tandem en el cromosoma 1.

18.4 ADN NO CODIFICADOR: ADN REPETITIVO Y ADN SATÉLITE

Una característica enigmática de los cromosomas de los eucariotas es la existencia en ellos de secuencias no codificadoras repetidas miles o millones de veces, cuya función es prácticamente desconocida. Estas secuencias pueden dar lugar a *bandas satélites* del ADN principal cuando se somete el ADN celular a centrifugación en cloruro de cesio, por lo que estas secuencias altamente repetidas se conocen también como ADN satélite. Muchas de las secuencias repetidas son segmentos, generalmente cortos, que se disponen a manera de *tándem* y se repiten miles de veces. Estas repeticiones se localizan, tanto en los centrómeros, como en los telómeros de los cromosomas. En el ser humano, se repite una secuencia de aproximadamente 170 pares de bases (*satélite α*) en las zonas centroméricas, llegando este ADN a representar el 5% del total del ADN humano. En los telómeros, existen secuencias cortas repetidas, que son también características de cada especie.

En el genoma humano, se hallan también otras secuencias repetidas en *tándem* diferentes a las existentes en los centrómeros y telómeros, y a las comentadas de los genes de los ARNr. Un tipo de secuencia repetida se caracteriza porque el número de unidades que se repite es variable (entre 3 y 20). Algunos segmentos en *tándem*, como los VNTR (número variable de repeticiones en *tándem*), son sitios hipervariables de los que existe un gran número de alelos diferentes, por lo que la longitud de los fragmentos obtenidos tras digerir con una endonucleasa de restricción que corte por las secuencias colindantes a las repeticiones, será generalmente distinta en individuos diferentes. Estas secuencias se conocen también como *minisatélites* (Fig. 18-6). Existen muchos lugares hipervariables en el genoma, por lo que el conjunto de fragmentos obtenidos a partir de los lugares VNTR para una persona será prácticamente específico para ese individuo (*huella de ADN*). Cuando la secuencia que se repite es extremadamente corta (dinucleótido o trinucleótido) se denominan *microsatélites o STR* (repeticiones en *tándem* de secuencias cortas). Un ejemplo de microsatélite en el genoma humano lo constituye la secuencia —(CA)_n— (donde n puede variar entre 4 y 40), que está repetida en unas

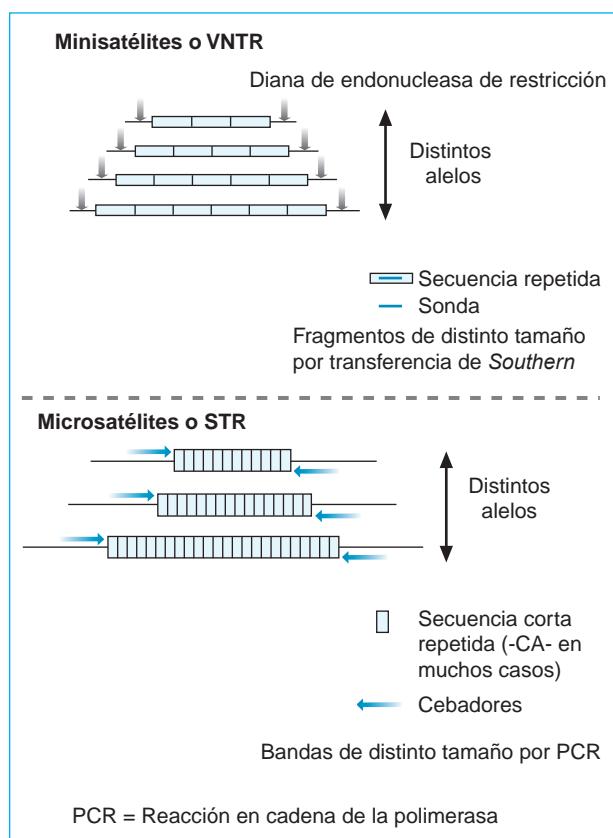


Figura 18-6. Polimorfismos de minisatélites y microsatélites. Existen alelos de minisatélites con un número variable de repeticiones en tandem (VNTR), que pueden ser analizados estimando la longitud de los fragmentos con la sonda adecuada. Los alelos de microsatélites se pueden amplificar y analizar mediante PCR.

100 000 posiciones diferentes. El análisis de estos polimorfismos tiene un gran interés aplicado dentro del campo de la medicina legal y forense.

El ADN de mamíferos posee, además, otras familias muy numerosas de secuencias repetidas, cuyos miembros están esparcidos a lo largo del genoma, llegando a veces hasta el millón de copias. Estas secuencias repetidas y dispersas se denominan *SINE* (repeticiones intercaladas cortas) si su longitud está entre 100 y 500 pares de bases, o *LINE* (secuencias intercaladas largas) si su tamaño es de varias kb. En los seres humanos, se encuentra un tipo de secuencia *SINE* característica, denominada *Alu*, de un gran interés aplicado, existiendo un promedio de una secuencia *Alu* por cada 5 kb de ADN, con un total de un millón de copias por genoma.

En otro orden de cosas, respecto al posible papel diferente del genoma materno y paterno, en el Recuadro 18-1 se comenta el fenómeno de la *impronta génica*.

Recuadro 18-1. LA IMPRONTA GÉNICA

Aunque en su mayor parte, los genes paternos y maternos son equivalentes, existen regiones de los genomas materno y paterno en los autosomas que no son funcionalmente equivalentes. Por tanto, ciertos genes pueden mostrar diferencias en su actividad, dependiendo de su origen. En el desarrollo embrionario, por ejemplo, ciertos genes paternos y maternos contribuyen al mismo de manera diferente. Esta influencia parental en el funcionamiento de un gen se denomina *impronta génica*.

En las células somáticas se mantiene la impronta génica característica, en función del origen paterno o materno del cromosoma. Sólo en las células germinales, que van a generar los gametos, tiene lugar la generación de la impronta característica de cada sexo, adoptando ambos cromosomas la impronta femenina, en las células germinales de las hembras y la impronta masculina, en los machos. En otras palabras, los gametos generados (óvulos o espermatozoides) tienen la impronta génica característica, independientemente del origen paterno o materno de los cromosomas de los mismos.

Se estima que una posible causa de la impronta génica es la metilación de determinadas secuencias del ADN. La metilación puede acarrear la inactivación de un gen. Así, si un gen de origen

materno está metilado (inactivo) y el paterno no, sólo el gen paterno se expresará. En el caso comentado, en las células germinales maternas ambos *loci* estarán metilados, mientras que en las paternas se desmetilarán, dando como resultado que el cigoto generado presente diferencia en la metilación del gen, en función de su origen materno o paterno (Fig. 18-7). Este mecanismo por el que el fenotipo resultante no depende de la secuencia del gen, sino del grado de

modificación del mismo, se denomina *epigenético*.

Se estima que en el genoma eucariótico existen regiones denominadas *aislantes* que marcan los límites de funcionamiento de las secuencias remotas de control de un gen determinado. La impronta o metilación de estos *aislantes* puede determinar también que la extensión de la zona de control de un gen concreto pueda ser distinta en los cromosomas paterno y materno.

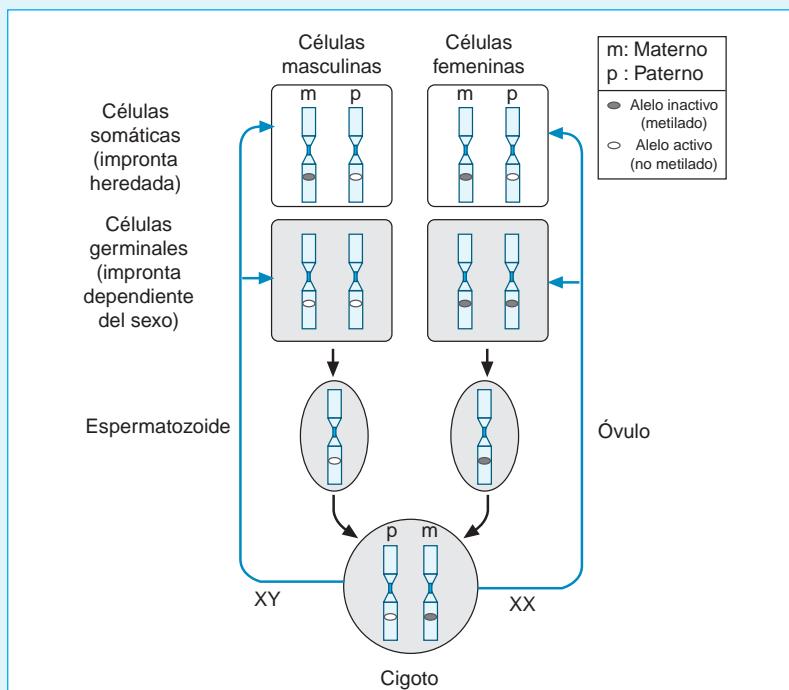
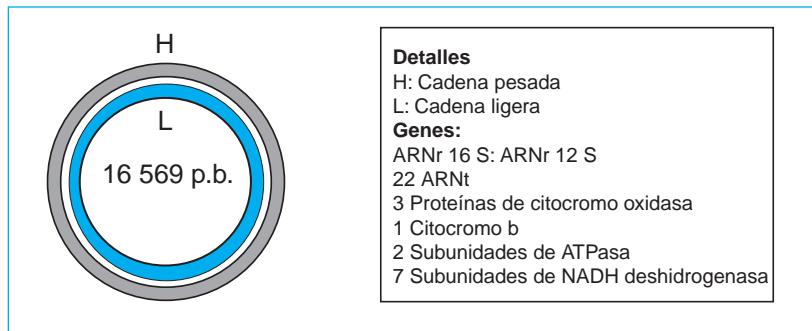


Figura 18-7. Impronta génica.

18.5 EL GENOMA MITOCONDRIAL

Aunque la mayor parte del ADN celular está localizada en el núcleo, no hay que olvidar que en las mitocondrias de las células eucarióticas existen moléculas de *ADN mitocondrial* (ADNmt). La molécula de ADNmt es pequeña y circular, existiendo varias copias por mitocondria y miles de moléculas por célula, si bien representa menos del 1% del ADN celular. El ADNmt humano ha sido secuenciado: está formado por 16 569 pares de bases, que corresponden a los distintos genes mitocondriales: 2 genes que codifican

ARNr, 22 genes que codifican ARNt y 13 genes que codifican polipéptidos de enzimas o complejos de la cadena respiratoria mitocondrial (Fig. 18-8). El genoma es muy compacto, ya que prácticamente todo par de bases pertenece a un gen, siendo todos los genes no fragmentados, por lo que se asemejan más a los genes bacterianos que a los genes nucleares. De las dos cadenas del ADNmt, una es rica en purinas, denominándose cadena pesada, o H, mientras que la otra es rica en pirimidinas, constituyendo la cadena ligera, o L. La cadena H codifica 28 genes, mientras que la L, sólo 9. Existe una región de control de la replicación y

**Figura 18-8.** Genoma mitocondrial humano.

transcripción mitocondrial y una región hipervariable, que es utilizada en la identificación forense y en estudios antropológicos de la evolución humana.

El ADNmt se replica dentro de la mitocondria y ésta se divide por fisión sencilla. Al dividirse una célula, las mito-

condrias se distribuyen al azar entre las dos células hijas. La herencia del ADNmt es de tipo materno, ya que mientras que el óvulo es rico en mitocondrias, los espermatozoides contienen pocas mitocondrias y éstas no pasan a la descendencia.

RESUMEN

- El fenotipo, o características estructurales y funcionales de una célula, depende fundamentalmente del conjunto de proteínas existentes en la misma.
- La información para la síntesis de las proteínas celulares está almacenada en las secuencias correspondientes a los genes de las moléculas del ADN presentes en la célula (genotipo), manifestándose a través del proceso de expresión, que depende de la transcripción (síntesis del ARN) y de la traducción (síntesis de las proteínas).
- Se considera como un gen a la secuencia de ADN codificante de una proteína incluyendo también las secuencias reguladoras.
- Mientras que la mayor parte de la secuencia de los genes de los procariotas es codificante de proteína, en los eucariotas, la mayoría de los genes son «fragmentados» o «discontinuos», ya que las secuencias que codifican distintas partes de una cadena polipeptídica (exones) están separadas por secuencias no codificantes (intrones).
- El tamaño y número de los intrones varía de un gen a otro, pero en todos los casos forman parte del transcripto primario, aunque no llegan a estar presentes en la molécula del ARN mensajero, que sirve de molde para la síntesis de las proteínas.
- El ADN de los organismos procarióticos suele estar formado por una gran molécula de ADN circular que incluye varios miles de genes y, en algunos casos por moléculas de ADN de menor tamaño denominadas plásmidos.
- En los organismos eucarióticos la mayoría de la información genética se encuentra localizada en el núcleo en diferentes elementos denominados cromosomas, formados cada uno de ellos por una molécula de ADN lineal de gran tamaño, asociado a histonas y otras proteínas para formar la cromatina.
- Mientras que en los organismos procarióticos los genes relacionados con una determinada ruta metabólica o proceso suelen estar agrupados formando unidades de transcripción que generan ARNm policistrónicos, en el genoma nuclear suelen encontrarse dispersos entre los diferentes cromosomas.
- En los mamíferos, el ADN codificante representa una pequeña proporción del genoma, siendo por tanto la mayoría de las secuencias de ADN no codificante, incluyendo en este último grupo, tanto al ADN intergénico, como al intragénico (intrones).
- Una parte del ADN no codificante está formado por secuencias repetidas de diferente tamaño que se presentan agrupadas en *tándem* (como los minisatélites y microsatélites) o dispersas entre los diferentes cromosomas (como los elementos SINE o LINE).
- El ADN mitocondrial está formado por una molécula de ADN circular de pequeño tamaño (varios miles de pares de bases) que codifica unas pocas decenas de genes (proteínas, ARNr y ARNt), existiendo numerosas copias de la misma en cada mitocondria.

EVALUACIÓN

1. (A). Flujo de la información genética.
 - a. El ADN puede servir de molde para la síntesis del ADN.
 - b. A partir de ARN no se puede sintetizar ADN.
 - c. En la transcripción inversa se obtiene ARN a partir de ARN.
 - d. Se produce en ausencia de enzimas.
 - e. Hay más de una respuesta correcta.

2. (B). Estructura de los genes de mamíferos.
 1. Todos los genes nucleares son «discontinuos».
 2. Los intrones son más largos que los exones.
 3. Su longitud suele ser menor que la de los bacterianos.
 4. Producen ARNm monocistrónicos.

a b c d e

3. (A). Estructura de los genes:
 - a. Las regiones reguladoras no codificantes se consideran parte de los genes.
 - b. El primer exón contiene las secuencias promotoras.
 - c. Los que codifican para un ARNm policistrónico forman parte de unidades de transcripción diferentes.
 - d. Las dos cadenas del gen son codificantes.
 - e. Hay más de una respuesta correcta.

4. (B). Organización genética:
 1. La densidad de genes en los cromosomas bacterianos es menor que en los eucariotas.
 2. En el genoma de mamíferos existen pseudogenes.
 3. La mayor parte del genoma bacteriano es no codificante.
 4. En los seres humanos existen 22 pares de autosomas.

a b c d e

5. (B). Cromosomas humanos:
 1. Se pueden distinguir por su tamaño, forma y patrón de bandas.
 2. En los metafásicos, las cromátidas hermanas se encuentran unidas por el centrómero.
 3. En los telómeros existen secuencias cortas repetidas centenares de veces.
 4. La eucromatina está más empaquetada que la heterocromatina.

a b c d e

6. (B). Distribución de los genes en los cromosomas humanos:
 1. Las familias génicas de las globinas α y β se encuentran en el mismo cromosoma.
 2. Los genes de las histonas se encuentran repetidos.
 3. Los genes que codifican los ARNr de mayor tamaño se localizan en el centrómero.
 4. Los genes del ARNr 5S se agrupan de forma independiente a los del ARNr de mayor tamaño.

a b c d e

7. (A). Secuencias repetidas:
 - a. Sólo se repiten secuencias no codificantes.
 - b. En los microsatélites, la longitud de la secuencia que se repite suele ser superior a 10 bases.
 - c. Los minisatélites son también conocidos como VNTR.
 - d. Las secuencias *Alu* tienen una longitud superior a las 5 kb.
 - e. Hay más de una respuesta correcta.

8. (C). Las secuencias SINE y LINE son ejemplos de secuencias repetidas en *tándem* PORQUE se distribuyen de esta forma repetida en los brazos corto y largo de los cromosomas eucarióticos.

a b c d e

9. (A). ADN mitocondrial:
 - a. Existen varias moléculas de ADN circular en cada mitocondria.
 - b. El ADNmt humano codifica algo más de un centenar de genes.
 - c. Ambas cadenas del ADNmt son codificantes.
 - d. La mayor parte de las secuencias del ADNmt humano son no codificantes.
 - e. Hay más de una respuesta correcta.

10. (B). Genes y genomas:
 1. El análisis de los microsatélites se utiliza en medicina forense.
 2. La herencia del ADNmt es de tipo materno.
 3. En los centrómeros de los cromosomas humanos se encuentra ADN satélite de tipo α .
 4. La mayoría de los genes mitocondriales son discontinuos.

a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Campbell JL, Cohen-Fix O: Chromosome cohesion: ring around the sisters? *TiBS* 2002; 27: 492-495.
- Decatur WA, Fournier MJ: rRNA modifications and ribosome function. *TiBS* 2002; 27: 344-351.
- Denli AM, Hannon GJ: RNAi: an ever-growing puzzle. *TiBS* 2003; 28: 196-201.
- Jegalian K, Lahn BT: El cromosoma de la masculinidad. *Inv y C* 2001; abril: 4-10.
- Johnson AW, Lund E, Dahlberg J: Nuclear export of ribosomal subunits. *TiBS* 2002; 27: 580-585.
- Kelleher C, Teixeira MT, Förstemann K *et al*: Telomerase: biochemical considerations for enzyme. *TiBS* 2002; 27: 572-579.
- Llave C: MicroARN. *Inv y C* 2004; julio: 68-75.
- Moxon ER, Wills C: Microsatélites de ADN. *Inv y C* 1999; marzo: 68-74.
- Nelson P, Kiriakidou M, Sharma A *et al*: The microRNA world: small is mighty. *TiBS* 2003; 28: 534-540.
- Ogle JM, Carter AP, Ramakrishnan V: Insights into the decoding mechanism from recent ribosome structures. *TiBS* 2003; 28: 259-266.
- Simonsson TY: A substrate for telomerase. *TiBS* 2003; 28: 632-638.
- Studitsky VM , Walter W, Kireeva M *et al*: Chromatin remodeling by RNA polymerases. *TiBS* 2004; 29: 127-135.
- Warner JR, Knopf PM: The discovery of polyribosomes. *TiBS* 2002; 27: 376-380.

BIOSÍNTESIS DEL ADN: REPLICACIÓN, RECOMBINACIÓN Y REPARACIÓN

19.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS PROCESOS DE SÍNTESIS DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS

Los ácidos nucleicos, al igual que los otros tipos de biomoléculas, están sujetos a procesos de síntesis y degradación. Los procesos mayoritarios de síntesis de los ácidos nucleicos son la *replicación* y la *transcripción*, aunque otros procesos como la *recombinación* o *reparación* del ADN, requieren la unión o síntesis de pequeños fragmentos de ADN. En todos ellos se necesita la presencia previa del ácido nucleico que actúa como molde. La replicación y la transcripción son procesos bioquímicos parecidos, ya que la característica de ambos es la síntesis de ácidos nucleicos, si bien su significación biológica es diferente.

La replicación es un proceso previo a la división celular, por el que las moléculas del ADN de una célula se duplican para formar nuevas moléculas, iguales a las preexistentes, las cuales se van a repartir de manera equitativa entre cada una de las dos células hijas formadas en el proceso de división celular. Este proceso ocurre solamente una vez para una célula en cuestión y afecta a todo el ADN de la misma. La transcripción es un proceso de síntesis de moléculas de ARN, que consiste en la copia de la secuencia de una de las dos cadenas de una porción concreta del ADN. El proceso de transcripción es, pues, un proceso de copia parcial y reiterativa del ADN, a diferencia de la replicación, en el que se copian íntegramente y de una sola vez las dos cadenas del mismo.

La replicación tiene como misión la transmisión de la información genética de célula a célula, de generación en generación, mientras que la transcripción es la primera etapa en el camino de la expresión de la información genética del ADN, lo que va a conferir a cada célula su propia identidad, que se manifiesta en la síntesis de un conjunto de proteínas típicas responsables del fenotipo celular. La reparación del ADN consiste en la sustitución de zonas dañadas en una cadena del dúplex, obteniéndose la información para regenerar la secuencia dañada de la hebra complementaria, mientras que la recombinación consiste en el intercambio de secuencias o fragmentos del ADN entre dos moléculas del mismo. Desde un punto de vista químico, tanto la replicación, como

la transcripción son procesos de síntesis de cadenas polinucleotídicas a partir de desoxinucleósidos trifosfato (dNTP), en el caso de la replicación, o de nucleósidos trifosfato (NTP) en el de la transcripción. La reacción básica, que es exergónica, consiste en la formación de enlaces fosfodiéster entre el grupo fosfato α unido al carbono 5' de un nucleótido trifosfato y el hidroxilo de la posición 3' de la pentosa del otro nucleótido, con la liberación de pirofosfato, que es hidrolizado hasta fosfato (Fig. 19-1a).

Aunque para la creación de este tipo de enlaces existen dos posibilidades de crecimiento teórico de la cadena polinucleotídica, las enzimas que llevan a cabo la síntesis de los ácidos nucleicos (*ADN polimerasas* y *ARN polimerasas*) sólo son capaces de hacerlo en la dirección 5' → 3' (Fig. 19-1b). Además, estas enzimas necesitan siempre la presencia de ADN preexistente, que va a actuar como *molde* para la selección del orden en que los nucleótidos se van a incorporar para sintetizar la cadena. Las hebras del ADN que se utilizan como molde deben estar desapareadas, en forma parcialmente monocatenaria, para que sus bases puedan formar enlaces por puentes de hidrógeno específicos con las bases de los nucleótidos que van a ser polimerizados. Este apareamiento es temporal y afecta solamente a una de las dos cadenas, en el caso de la transcripción, y es permanente y afecta a ambas cadenas del ADN, en la replicación (Fig. 19-2).

Una diferencia importante en el mecanismo de síntesis de los dos tipos de ácidos nucleicos es que en el proceso de transcripción, la síntesis del ARN puede comenzar mediante la unión de dos NTP, dando lugar a un dinucleótido que sirve de germen para el crecimiento ulterior de la cadena, mientras que las enzimas que sintetizan ADN sólo pueden unir dNTP al hidroxilo del extremo 3' de una pequeña cadena preexistente de ácido nucleico, denominada *cebador*. Debido a que el apareamiento entre cadenas sólo puede ser antiparalelo, la cadena molde es leída o recorrida por las enzimas en el sentido 3' → 5'.

Las polimerasas de ácidos nucleicos son *enzimas procesivas*, ya que suelen catalizar muchos ciclos de elongación de la cadena sin separarse del molde. La replicación es un proceso muy complejo que se desarrolla con gran fidelidad, ya que en él se lleva a cabo la copia de secuencias de millones de pares de bases con una tasa de errores muy baja.

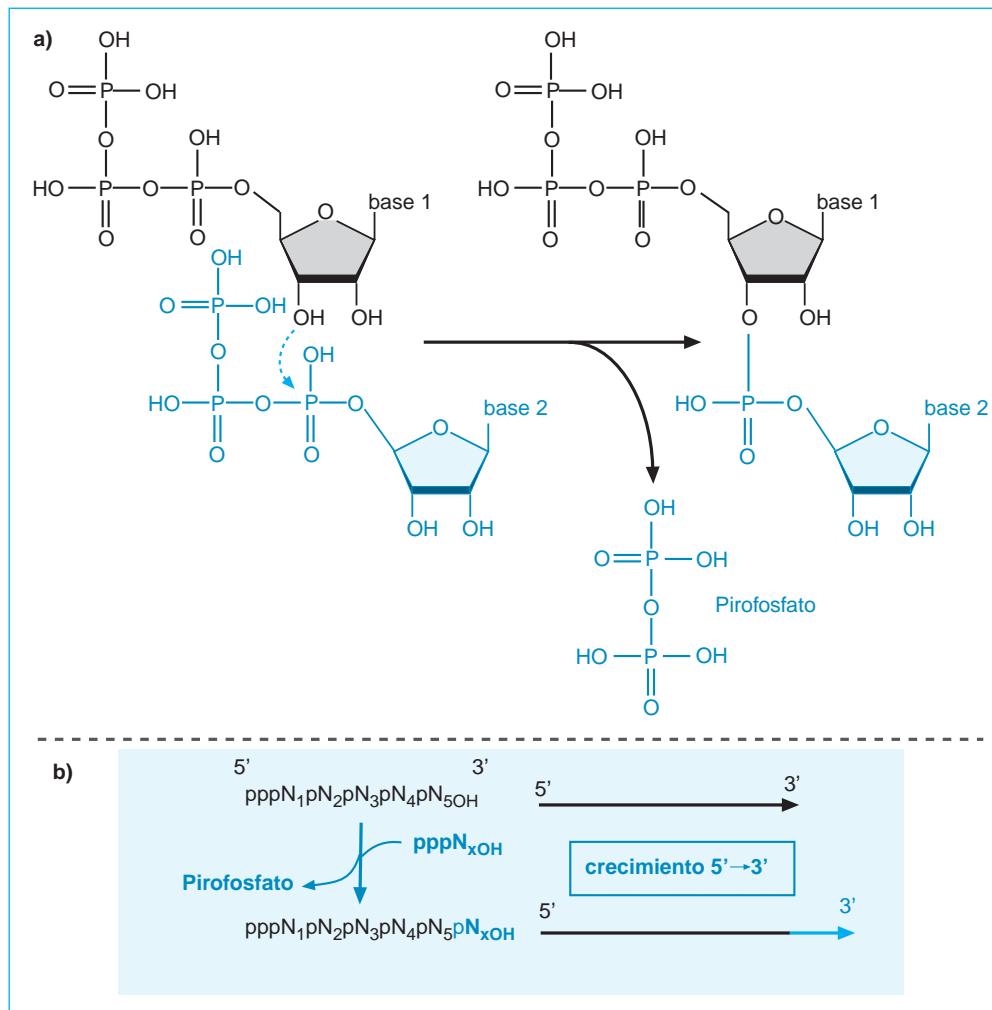


Figura 19-1. a) Formación de un enlace fosfodiéster por reacción del grupo fosfato 5' de un nucleótido y el hidroxilo 3' del otro nucleótido. b) Crecimiento de la cadena polinucleotídica en la dirección 5' → 3'.

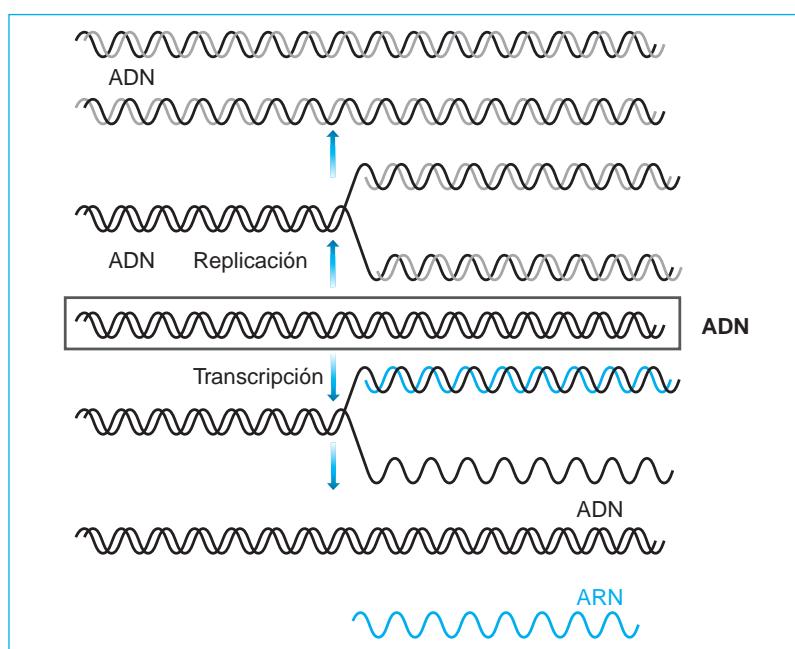


Figura 19-2. Apareamientos entre las hebras preexistentes del ADN y las hebras de nueva síntesis, durante la replicación (arriba) y la transcripción (abajo).

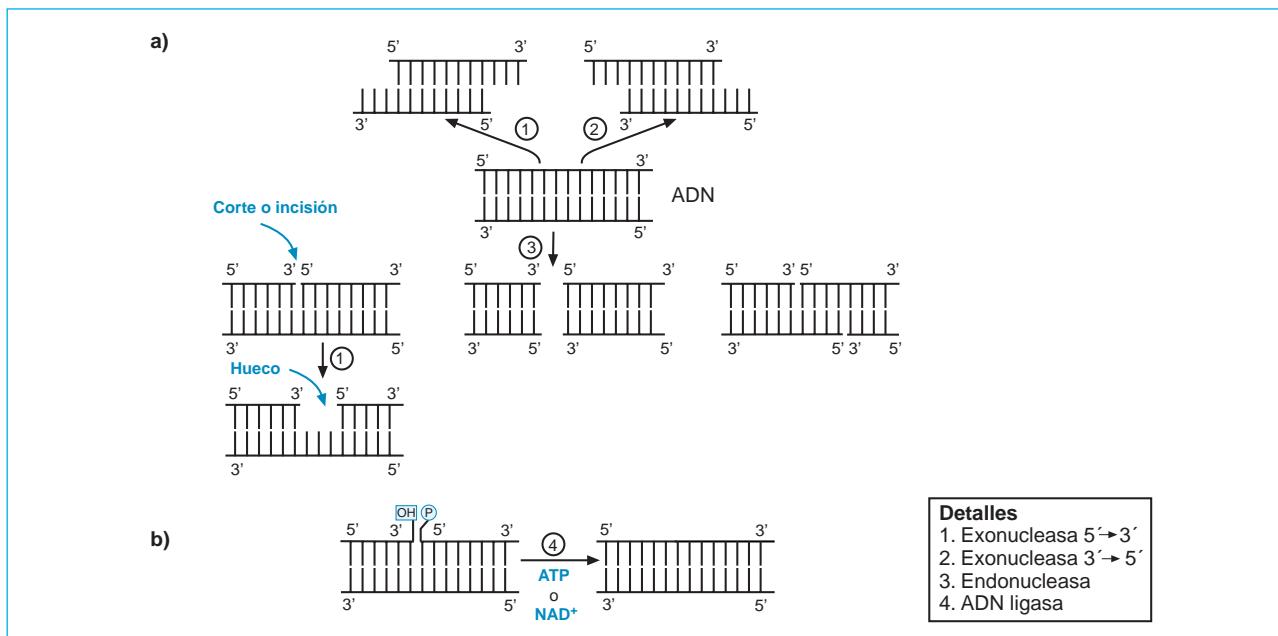


Figura 19-3. a) Degradación de una molécula de ADN por acción de diferentes nucleasas. b) Formación del enlace fosfodiéster y unión de dos extremos del ADN por la ADN ligasa.

Aunque la mayor parte de las reacciones de la replicación y la transcripción consiste en la formación de enlaces fosfodiéster, durante la replicación y, también, una vez finalizada la transcripción tienen lugar procesos hidrolíticos, catalizados por enzimas con actividad nucleasa. Las *nucleasas* (Fig. 19-3a) forman una familia variada de enzimas que hidrolizan enlaces fosfodiéster y que, de acuerdo con la posición de estos enlaces en la cadena polinucleotídica, se denominan *endonucleasas* (rompen enlaces internos) o *exonucleasas* (rompen enlaces terminales, liberando mononucleótidos). Las *exonucleasas* que atacan el enlace del extremo 3' se denominan *exonucleasas 3'→5'*, y *exonucleasas 5'→3'*, las que atacan el extremo 5'. Las que degradan el ADN se denominan *ADNasas* y las que tienen ARN como sustrato, *ARNasas*.

Una endonucleasa que rompe un enlace fosfodiéster en una sola cadena del ADN interrumpe el esqueleto polinucleotídico creando un corte o incisión, pero esta reacción puede ser revertida por una *ADN ligasa*, que restablece el enlace entre el grupo fosfato y el hidroxilo, que ocupan posiciones vecinas (Fig. 19-3b). En el caso del ARN, la rotura de un enlace de la cadena va a originar dos fragmentos que generalmente no se pueden volver a unir. Las *endoADNasas* que cortan ambas cadenas de ADN en posiciones opuestas producen la fragmentación de la molécula del ADN (Fig. 19-3a).

Las *topoisomerasas* de ADN son enzimas que poseen simultáneamente actividades endonucleasa y ligasa, que usa-

das alternativamente afectan al grado de superenrollamiento del ADN. Existen dos tipos de *topoisomerasas*. Las *topoisomerasas I* cortan en un punto de una de las dos hebras del ADN, permaneciendo unidos los extremos del corte a la enzima que gira alrededor de la otra hebra y vuelve a unir los extremos cortados (Fig. 19-4a). Las *topoisomerasas II* eliminan el superenrollamiento positivo del ADN mediante un mecanismo de corte en el que se ven afectadas las dos hebras de la molécula del ADN (Fig. 19-4b).

Aparte de los dos procesos mayoritarios de síntesis de los ácidos nucleicos comentados, existen otros minoritarios ya citados (reparación y recombinación del ADN) que afectan a zonas pequeñas del ADN y que hacen uso de *endonucleasas*, *polimerasas* y *ligasas*, así como procesos atípicos de síntesis del ADN o ARN, a partir de moldes de ARN, que ocurren durante la multiplicación de determinados tipos de virus (transcripción inversa y replicación del ARN) y en la replicación de los telómeros.

19.2 REPLICACIÓN DEL ADN

19.2.1 Replicación del ADN en los procariotas

En las bacterias, donde el proceso se conoce mejor que en las células eucarióticas, participan desoxinucleósidos trifosfato (dATP, dGTP, dCTP y dTTP) y ADN como sustratos, y una serie de proteínas y enzimas que se asocian con el ADN para

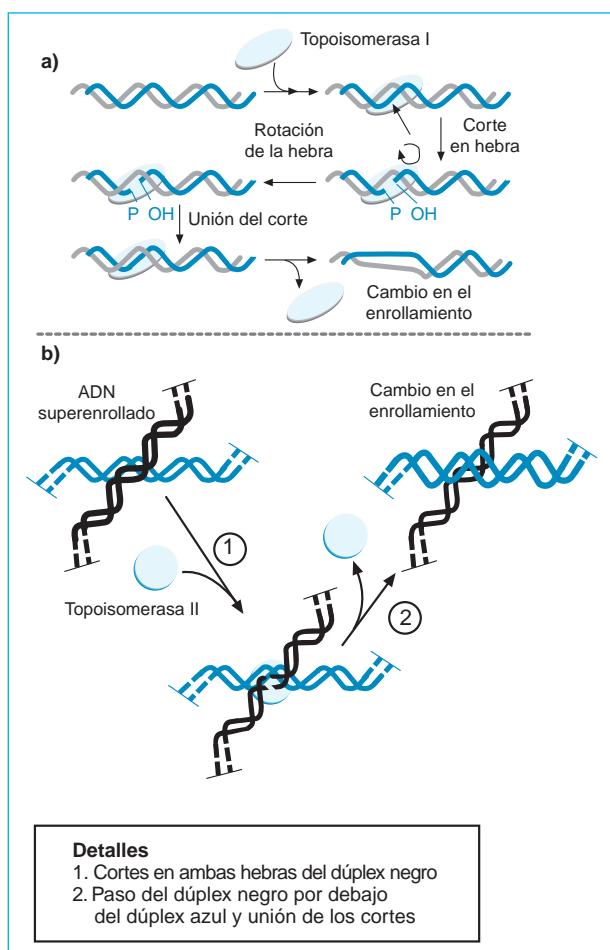


Figura 19-4. Acción de las topoisomerasas sobre moléculas de ADN. a) Eliminación de vueltas de la doble hélice, mediante rotura y unión de una hebra por una topoisomerasa de tipo I. b) Cambio del patrón de superenrollamiento del ADN por una topoisomerasa de tipo II.

llevar a cabo de una manera ordenada la replicación del mismo (Tabla 19-1).

La replicación del ADN de la bacteria *E. coli* es una *replicación monofocal*, ya que comienza en una zona concreta del cromosoma circular, denominada *origen de replicación* (ori C), y se extiende a partir de ese punto en direcciones opuestas (*replicación bidireccional*), mediante la actuación de dos equipos de maquinaria replicadora (*replisomas*), cada uno de los cuales se encarga de la síntesis de la mitad del cromosoma. La replicación es *semiconservativa*, ya que de las dos moléculas idénticas resultantes del proceso, cada una de ellas posee una cadena que estaba presente en la molécula parental preexistente y la otra cadena complementaria es de nueva síntesis (Fig. 19-5).

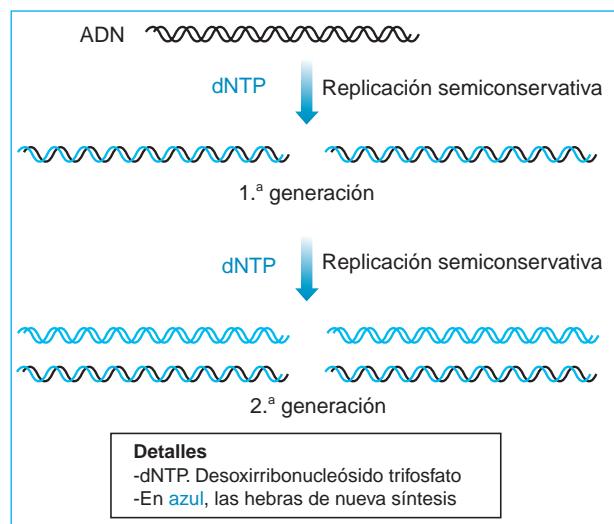


Figura 19-5. Replicación semiconservativa del ADN. Las hebras de ADN preexistente son de color negro y las de nueva síntesis, de color azul.

Tabla 19-1. Proteínas y enzimas de la replicación del ADN de *E. coli*

Componente	Función
Proteínas dna A, dna C (inhibidor de helicasa), HY, SSBP (proteínas de unión al ADN monocatenario), proteínas HU, i, n, n', n'', etcétera.	Reconocer el origen de la replicación; favorecer la separación de cadenas de ADN y formar los complejos macromoleculares del inicio, cebado y progreso de la síntesis de las cadenas y la separación final de las mismas.
Proteínas de unión a ter (TBP)	Terminación de la replicación.
Enzimas: ADN polimerasas I, II, III, IV, V Enzima cebadora (proteína dna G o primasa) Helicasas (proteína dna B) ADN ligasa ADN topoisomerasas I y II (ADN girasa)	Síntesis del ADN, corrección, reparación. Síntesis del ARN cebador. Apertura de las cadenas del dúplex. Unión covalente de fragmentos de ADN. Desenrollamiento y enrollamiento de moléculas de ADN.

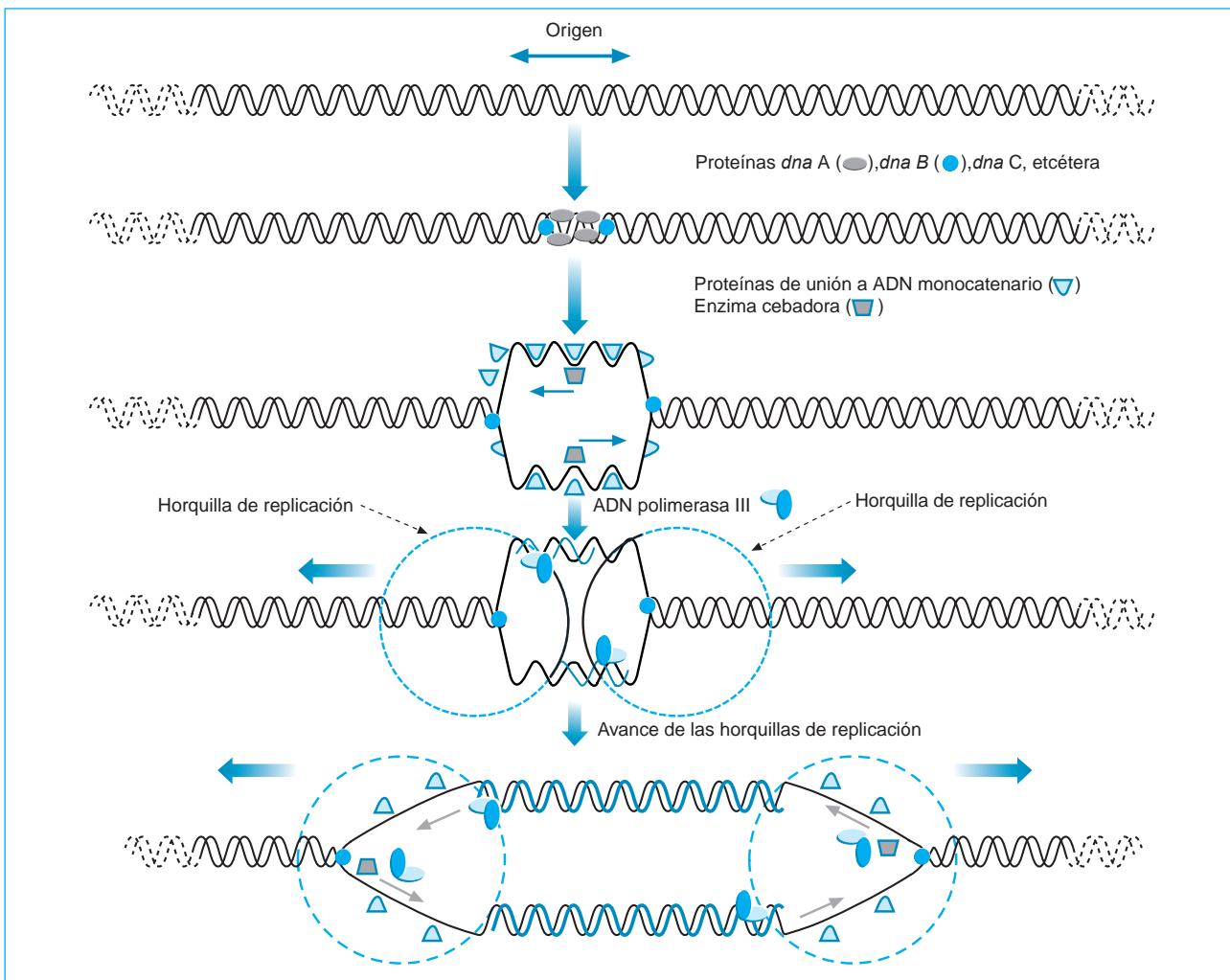


Figura 19-6. Esquema del inicio de la replicación del ADN circular de *E. coli*. El origen de replicación es reconocido por la proteína dna A, formándose con el concurso de otras proteínas el complejo de iniciación, que implica la separación de las cadenas por la helicasa (proteína dna B) y su unión a proteínas de unión a ADN monocatenario, tras lo cual se sintetiza el cebador de ARN por la enzima cebadora, y el comienzo de la síntesis de ADN por la ADN polimerasa III. Se generan dos horquillas de replicación que se desplazan en direcciones opuestas.

El proceso se inicia con la participación de proteínas y enzimas que reconocen el origen, separando las cadenas del ADN en una zona concreta para que ambas hebras puedan actuar como molde, y con la creación por la *enzima cebadora* (también llamada *primasa*) de una pequeña cadena de ARN que es utilizada como cebador (*primer*, en inglés) por la *ADN polimerasa III*, comenzando a partir del mismo la síntesis del ADN (Fig. 19-6). La *ADN polimerasa III* se desplaza sobre la cadena molde sintetizando ADN a gran velocidad, ya que posee un elevado número de recambio. La zona donde se produce la bifurcación de la doble hélice y sus zonas adyacentes activas, en la síntesis del ADN se conoce como *horquilla de replicación*, existiendo dos horquillas que

se desplazan en direcciones opuestas, siendo idénticos los acontecimientos que ocurren en ambas (Fig. 19-7).

Como quiera que la *ADN polimerasa* sólo sintetiza cadenas en el sentido 5' → 3', en cada una de las horquillas, una de las cadenas de nueva síntesis se sintetiza de manera continua (*hebra guía o adelantada*) y la otra, de manera temporalmente discontinua (*hebra retrasada*). Los fragmentos cortos de ADN intermedios del proceso de síntesis del ADN se conocen con el nombre de *fragmentos de Okazaki*. Los fragmentos de ARN en la hebra retrasada son creados por la *enzima cebadora* y elongados por medio de la *ADN polimerasa III*. A medida que procede la replicación, los cebadores de ARN son eliminados por la actividad *exonucleasa 5' → 3'* de

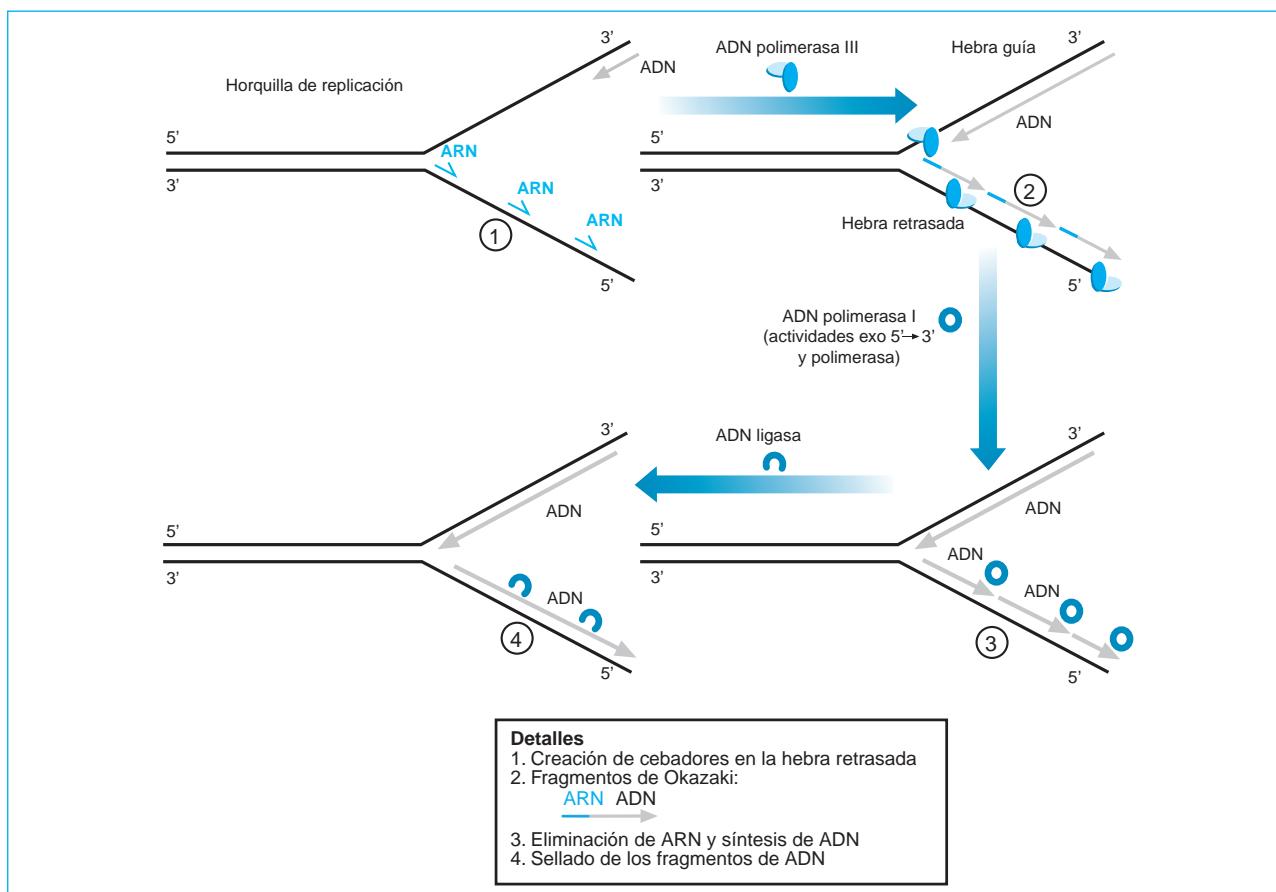


Figura 19-7. Síntesis de ADN en una horquilla de replicación de *E. coli*. En la parte superior, la hebra guía crece de manera continua en dirección 5' → 3' por la ADN polimerasa III, mientras que en la parte inferior se crean cebadores por la enzima cebadora, a partir de los cuales la ADN polimerasa III sintetiza fragmentos de ADN de forma discontinua (fragmentos de Okazaki). Las secuencias de ARN son eliminadas por la actividad exonucleasa 5' → 3' de la ADN polimerasa I, la cual rellena los huecos creados, uniéndose los extremos de los mismos mediante la ADN ligasa. En la creación de nuevos moldes participa la helicasa, que se desplaza hacia la izquierda.

la *ADN polimerasa I*, la cual se encarga asimismo de llenar los huecos creados por la eliminación de dichos cebadores. Finalmente, la *ADN ligasa* dependiente de NAD⁺ se encarga de unir los diferentes fragmentos adyacentes sintetizados. Una vez formadas las dos moléculas de ADN equivalentes, éstas se separan y se reparten entre las dos células hijas en el proceso de división celular.

Las *ADN polimerasas* dependientes de ADN, poseen una actividad *exonucleasa 3' → 5'* que sólo utilizan cuando han incorporado por error un desoxinucleótido que no es complementario de la base correspondiente del molde. Esta actividad *exonucleasa* les permite romper el último enlace fosfodiéster, formado por el nucleótido erróneo de la posición 3' y sustituirlo por el correcto. Esta *actividad correctora de las polimerasas* asegura la copia sin errores de las largas cadenas polinucleotídicas.

En las bacterias, además de la molécula de ADN principal, existen pequeñas moléculas de ADN circular denominadas *plásmidos*, que se replican, simultáneamente o no, con el cromosoma principal, y por un mecanismo similar. Todo plásmido o todo ADN introducido en una bacteria debe poseer una secuencia origen de replicación para poder ser multiplicado por la maquinaria de replicación.

19.2.2 Replicación del ADN en los eucariotas

En los organismos eucarióticos la replicación del *ADN nuclear* es más compleja que en las bacterias, ya que, por una parte, las moléculas lineales de ADN que forman los *cromosomas eucarióticos* poseen un número de pares de bases mucho más elevado que las moléculas de ADN bacteriano y, consecuentemente, son de mayor longitud, y por otra parte,

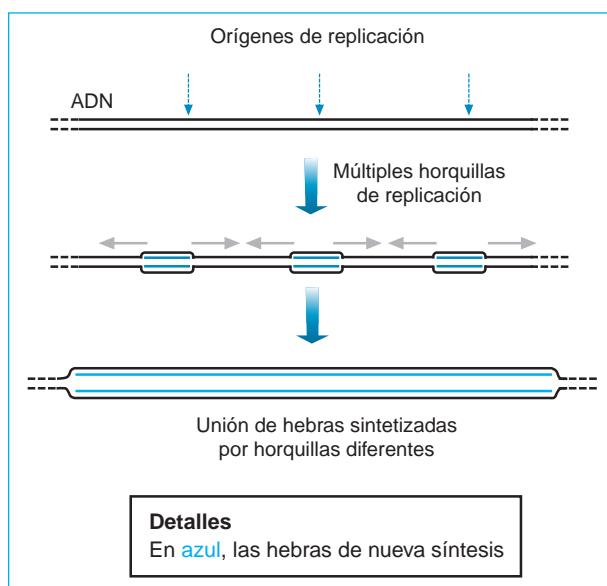


Figura 19-8. Esquema de la replicación de un fragmento de un cromosoma lineal eucariótico. Existen múltiples orígenes y replicones que contribuyen a la replicación de todo el ADN.

su organización en la fibra de cromatina es más compleja. En las células eucarióticas tiene también lugar la replicación del *ADN mitocondrial*, por medio de la maquinaria mitocondrial, que es diferente a la que existe en el núcleo celular.

Los cromosomas de los eucariotas poseen múltiples orígenes de replicación (*replicación multifocal*), lo que permite la síntesis simultánea de ADN en diferentes zonas del cromosoma (*replicones*) por diferentes equipos de replicación (Fig. 19-8). La maquinaria biosintética de los eucariotas es básicamente similar a la de los procariotas, pero más compleja (Tabla 19-2), existiendo diferencias, tanto en la estructura, como en otras propiedades como, por ejemplo, la sensibilidad frente a inhibidores (Tabla 19-3). A partir de cada origen de replicación, el ADN se replica en doble sentido, existiendo en cada horquilla una hebra guía, en la que el ADN se sintetiza de manera continua y una hebra retrasada, en la que la síntesis del ADN se realiza de manera discontinua, formándose fragmentos de Okazaki, que son de menor tamaño que los producidos en las bacterias. En los eucariotas se conocen más de una decena de *ADN polimerasas* diferentes. La ADN polimerasa α lleva asociada la actividad cebadora.

Tabla 19-2. Maquinaria de replicación del ADN de los eucariotas

Componente	Tipo	Función
ADN polimerasas	α	Localización nuclear. Actividad polimerasa 5' → 3'. Actividad exonucleasa 3' → 5'. Actividad cebadora en la subunidad p48. Síntesis de ADN <i>i</i> .
	β	Localización nuclear. Reparación del ADN.
	γ	Localización mitocondrial. Actividad polimerasa 5' → 3'. Actividad exonucleasa 3' → 5'.
	δ	Localización nuclear. Actividad polimerasa 5' → 3'. Actividad exonucleasa 3' → 5'. Replicación de ADN nuclear.
	ϵ	Localización nuclear. Actividad polimerasa 5' → 3'. Actividad exonucleasa 3' → 5'. Replicación de ADN nuclear.
	$\zeta, \eta, \theta, \iota, \dots$	Función poco establecida.
Proteínas diversas	Complejo ORC (proteínas Mcm, Cdc6, etc.)	Reconocimiento de orígenes. Actividad helicasa.
	Proteína de replicación A (RPA)	Proteína de unión a ADN monohebra.
	Factor de replicación C	Cambio de ADN polimerasa α por ADN polimerasas δ o ϵ .
	Antígeno nuclear de células proliferantes (PCNA)	Aumento de procesividad de ADN polimerasas δ o ϵ .
	Factores de ensamblado de la cromatina (CAF) Acetilasas y desacetilasas de histonas	Adición de histonas de nueva síntesis al ADN y formación de cromatina.
	Cohesinas	Separación de cromátidas hermanas.
Enzimas	ARNasa H1, FEN1	Eliminación del ARN cebador.
	ADN ligasa	Unión de fragmentos.
	Topoisomerasas	Enrollamiento y desenrollamiento de ADN.
	Telomerasa	Replicación de telómeros.

Tabla 19-3. Inhibidores de la síntesis de los ácidos nucleicos

Mecanismo	Inhibidor	Proceso afectado
Interacción con ADN	No covalente: acridinas, actinomicina D, etcétera Covalente: nitrosoureas, mitomicina C, etcétera	Replicación y transcripción en los procariotas y eucariotas.
Síntesis de nucleótidos	Análogos de bases o nucleósidos Antimetabolitos del folato	Replicación y transcripción en los procariotas y eucariotas.
Síntesis de polinucleótidos	Análogos de nucleótidos: didesoxiNTP Análogos de nucleósidos: nucleósidos acíclicos, azidonucleósidos, etcétera	Replicación en los procariotas y eucariotas.
Enzimas: ADN polimerasas α y δ	Afidicolina	Replicación en los eucariotas.
ADN polimerasas	Análogos dNTP y pirofosfato	Replicación en los procariotas y eucariotas.
ADN topoisomerasa I	Camptotecina	Replicación en los eucariotas.
ADN girasa	Coumermicina, ácido nalidíxico	Replicación en los procariotas.
ADN ligasa	Análogos del ATP	Replicación en los eucariotas.

dora que ocasiona la generación de pequeñas cadenas de ARN, que son completadas por la actividad polimerasa para generar el ADN iniciador (ADNi). Estas cadenas son elongadas por las *ADN polimerasas δ y ϵ* , tanto en la hebra continua, como en la discontinua. El ARN de los fragmentos de Okazaki es eliminado por la *RNAsa H1* y *FEN1*, y los huecos llenados por la *ADN polimerasa δ* . Finalmente, una *ADN ligasa* que consume ATP se encarga de unir los fragmentos de ADN sintetizados.

La síntesis del ADN de los eucariotas tiene lugar durante una fase concreta del ciclo celular (la *fase S*), en la que se replican los diferentes cromosomas nucleares y se produce una alta *síntesis de histonas*, proteínas necesarias para regenerar la estructura cromatínica característica. Durante la replicación, las histonas viejas permanecen unidas al dúplex, mientras que las de nueva síntesis se asocian a ambas cadenas de nueva síntesis, con la colaboración de los factores de ensamblado de la cromatina (CAF). Las histonas H3 y H4 recién sintetizadas son acetiladas en su extremo terminal y se desacetilan enzimáticamente, una vez que se han incorporado a la cromatina.

Mientras que todas las horquillas de replicación interiores contactan con sus vecinas a medida que avanzan, sirviendo en la confluencia los extremos 3' de las hebras guía de cada horquilla como cebadores para el relleno de los huecos dejados por la eliminación de los cebadores en el extremo de las hebras retrasadas, en las horquillas de replicación de los dos extremos del ADN la síntesis de las cadenas nuevas de la hebra retrasada no puede terminarse, ya que tras eliminar los

cebadores ninguna de las *ADN polimerasas* conocidas es capaz de llenar ese hueco por ausencia de cebador. Esto trae como consecuencia que en muchos tipos de células, los extremos 5' de las cadenas nuevas se van acortando en cada replicación, produciéndose lo que se denomina acortamiento de los *telómeros*.

Los telómeros de los cromosomas de los eucariotas están formados por repeticiones consecutivas de una secuencia hexanucleotídica característica rica en G (en el ser humano, TTAGGG). Esta redundancia permite, probablemente, que las moléculas de ADN en ciertos tipos de células se vayan acortando sin que se alteren secuencias codificadoras durante un número determinado de replicaciones o divisiones celulares. Este hecho podría estar relacionado con la longevidad de las células. Sin embargo, en algunos tipos de células (células germinales y células cancerosas) se expresa una enzima, denominada *telomerasa*, que evita el acortamiento de los telómeros, lo que posiblemente hace que dichas células puedan dividirse indefinidamente.

Esta enzima, de naturaleza ribonucleoproteica, consta de una molécula de ARN de aproximadamente 160 nucleótidos de longitud (denominada TER o ARN de la telomerasa), que sirve de molde para la síntesis del hexanucleótido reiterativo, utilizando el extremo 3' telomérico monocatenario como cebador, y una parte proteica con actividad *transcriptasa inversa* (TERT o *transcriptasa inversa de la telomerasa*). La enzima es capaz de elongar el extremo 3' en decenas de nucleótidos antes de disociarse del extremo. Aunque no se conoce con exactitud, parece ser que la *ADN polimerasa α* y

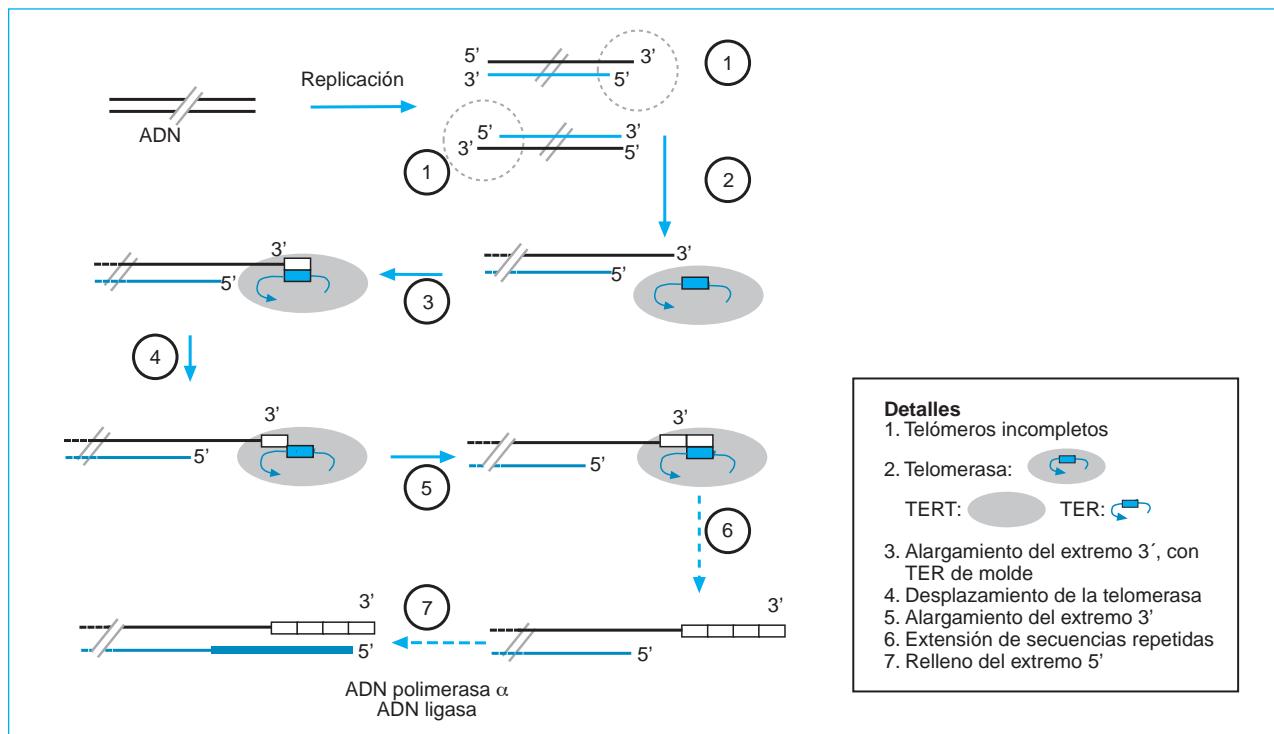


Figura 19-9. Síntesis de ADN en los telómeros. En cada uno de los telómeros donde existen secuencias repetidas, la síntesis del ADN es incompleta, ya que la eliminación del cebador genera extremos monocatenarios 3' en las cadenas antiguas. En las células que existe telomerasa, a partir del ARN molde de la telomerasa que posee las mismas secuencias repetidas, se va extendiendo el extremo 3' de la cadena vieja mediante la actividad transcriptasa inversa de la enzima, produciendo el alargamiento de ese extremo en varias unidades repetidas. Esos extremos monocatenarios son utilizados de molde por la ADN polimerasa α que con la ADN ligasa produce la extensión del extremo 5' de las cadenas de nueva síntesis, evitando el acortamiento de los telómeros (el rectángulo que se repite).

su subunidad cebadora asociada podrían llenar el extremo 5' del ADN, evitando así el acortamiento de los telómeros, aunque la eliminación del ARN cebador dejaría extremos monocatenarios 3' (Fig. 19-9). Se conocen proteínas como TRF1, TRF2 y POT1 que interactúan con los telómeros actuando como reguladores de la actividad *telomerasa*.

Aunque la velocidad de síntesis del ADN en las horquillas de replicación de los cromosomas eucarióticos es más baja que en el caso de los organismos procarióticos (unos 50 nucleótidos por segundo frente a los 1000 por segundo), la actuación simultánea de múltiples replisomas determina que la replicación de los cromosomas eucarióticos se pueda llevar a cabo en menos de 24 horas. El inicio de la síntesis del ADN o entrada en la fase S es un proceso altamente controlado, en el que la activación de la maquinaria biosintética depende de la síntesis de determinadas *ciclinas*, y de la activación de *quinasas dependientes de ciclinas* que favorecen la transición de la fase G₁ a la fase S (véase el Cap. 27).

El orden de replicación de las diferentes regiones cromosómicas depende de la estructura de la cromatina donde se

encuentra el origen: las regiones de eucromatina se replican antes que las de heterocromatina. Por otra parte, el inicio de la mitosis requiere que se haya llevado a cabo la replicación de todo el ADN nuclear, e incluye la activación de *proteína quinasa dependiente de ciclinas M*, y la presencia de proteínas como *securina*, *separasa*, o *Mad2*, y de la formación de complejos multiproteicos (como el complejo *condensina*, requerido para la condensación cromosómica, el complejo promotor de la anafase o el complejo de *cohesinas*, requerido para la separación de cromátidas, etc.) que contribuyen al reparto de las moléculas de ADN sintetizado entre las células hijas.

Por último, la replicación del ADN mitocondrial es llevada a cabo por la *ADN polimerasa γ* por medio de un mecanismo algo diferente al de la replicación del ADN bacteriano o nuclear. Cada una de las cadenas del ADN mitocondrial es replicada de forma independiente, a partir de orígenes diferentes y de manera continua en ambas hebras. Se utilizan cebadores creados por la *ARN polimerasa mitocondrial*. A diferencia del ADN nuclear, el ADNmt se replica a lo largo del ciclo celular.

Tabla 19-4. Lesiones y modificaciones del ADN

<i>Tipos de lesiones</i>	<i>Ejemplos</i>
Pérdida de bases	Producción de sitios apurínicos o apirimidínicos (AP)
Cambios de bases	Desaminaciones (C→uracilo; A→hipoxantina, etc.) Errores de replicación (sustitución de bases)
Modificación química de bases	Metilación, alquilación, hidroxilación, etcétera
Rotura de enlaces fosfodiéster	Cortes en las cadenas polinucleotídicas
Entrecruzamientos	Unión covalente en ambas cadenas
<i>Causa de las lesiones</i>	<i>Ejemplos</i>
Espontáneas	Desaminaciones. Pérdida de bases. Errores de replicación
Inducidas	
• Agentes físicos	Radiación UV (dímeros de pirimidina) Radiación ionizante (cortes en las cadenas)
• Agentes químicos	Especies reactivas oxigenadas (ROS) Ácido nitroso (C → U) Agentes alquilantes (metilaciones, alquilaciones) Agentes bifuncionales (entrecruzamientos) Carcinógenos
<i>Efectos sobre el ADN</i>	
Alteración de bases sin distorsión de la hélice:	Distorsión de la estructura: • Dímeros de pirimidinas • Entrecruzamientos • Modificación de bases por grupos voluminosos
• Desaminaciones • Metilaciones, etcétera	

19.3 LESIONES DEL ADN. MUTACIONES. REPARACIÓN DEL ADN

Las moléculas de ADN, y por consiguiente la información genética, se transmiten de generación en generación con muy pocos cambios. Ello se debe, por una parte, a que en el proceso de replicación, como hemos visto, la copia de la información se realiza de una manera altamente precisa y, por otra, a que las moléculas de ADN son metabólicamente estables, y por tanto, entre replicación y replicación no suelen acumular alteraciones importantes. Sin embargo, las moléculas de ADN no son invulnerables y están sujetas a una serie de ataques que proceden de agentes, tanto físicos como químicos, exógenos y endógenos, que producen *lesiones* o alteraciones en la estructura del mismo. En la Tabla 19-4 se relacionan algunos agentes, así como los tipos de modificaciones que se producen con más frecuencia. Hay modificaciones que producen el cambio de una base por otra (por ejemplo, la citosina se transforma en uracilo por desaminación), lo que afecta al apareamiento del par de bases, formándose un apareamiento incorrecto, que no suele provocar distorsiones

importantes de la estructura helicoidal. Otras alteraciones, sin embargo, producen cambios en la estructura covalente que afectan a la estructura del ADN y a su capacidad para replicarse y transcribirse.

Gran número de estas lesiones puede ser detectado y corregido por los *sistemas de reparación del ADN*. Las que no se reparan pueden dar lugar a errores en la replicación, originando un cambio permanente de la información genética, o *mutación*. Las mutaciones más corrientes son las denominadas *puntuales* (o puntiformes), que afectan a un par de bases en la secuencia del ADN, y que incluyen el cambio de una base por otra (*sustitución*), o la pérdida («*deleción*») o ganancia (*inscripción*) de una base (Fig. 19-10). Estas mutaciones pueden tener diversas consecuencias para la célula mutante. En algunos casos, la mutación no produce ninguna alteración en la proteína correspondiente (*mutación silenciosa*); pero, en otros, puede originar el cambio de un determinado aminoácido de una proteína por otro, lo que puede afectar a su actividad biológica. A veces, la mutación puntual puede dar lugar a proteínas truncadas o con gran parte de su secuencia alterada, por lo que serán biológicamente inactivas.

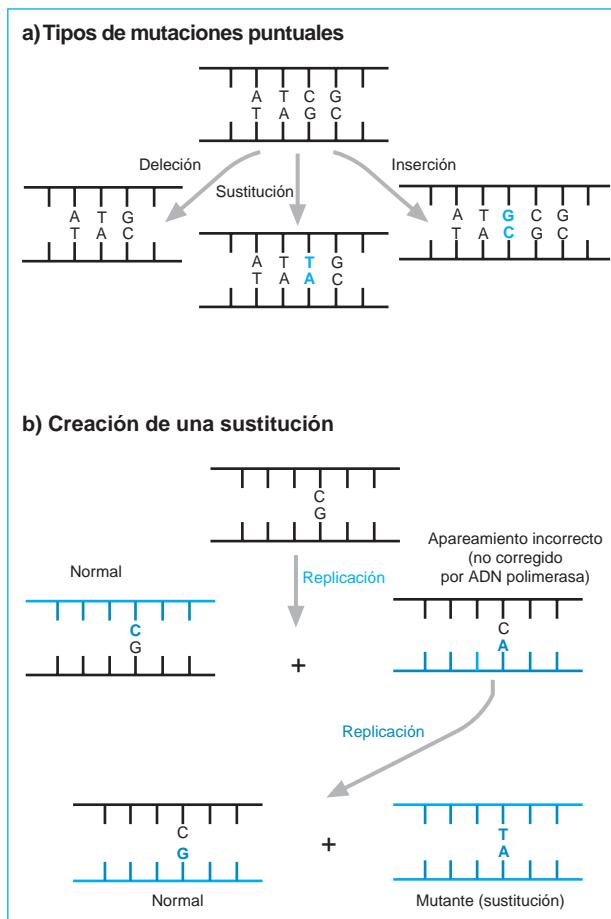


Figura 19-10. Generación de mutaciones en el ADN. a) Distintos tipos de mutaciones puntuales. b) Creación de una sustitución por error replicativo no corregido.

vas. La posición donde se produce la mutación dentro del gen determina su repercusión biológica (véase el Cap. 25).

Otras mutaciones incluyen la pérdida de algunos pares de bases o incluso secuencias más grandes, multiplicaciones anormales de determinadas secuencias (*amplificación de tripletes*), o trasladados de secuencias de unas regiones del cromosoma a otras, o entre diferentes cromosomas (*translocaciones*). Todas ellas suelen ocasionar alteraciones fenotípicas evidentes (véase el Cap. 25).

En cualquier caso, debido a la existencia de *mecanismos de reparación*, las mutaciones del ADN son muchas menos que el número de alteraciones que se producen en las moléculas de ADN. En la Tabla 19-5 se mencionan varios de estos sistemas. En algunos, la reparación consiste en la simple reversión de los enlaces creados en el proceso de alteración: así, por ejemplo, la formación de dímeros de timina entre timinas adyacentes, producida por la luz ultravioleta en una cadena de ADN, es revertida en algunos seres vivos por medio de una *fotoliasa* o *enzima de reactivación*, que elimina los enlaces entre las timinas mediante la acción de la luz visible (Fig. 19-11). En otros casos, como en la *reparación por eliminación de bases (BER)*, el mecanismo de reparación incluye la eliminación de la base alterada (por medio de enzimas de la familia de las *ADN glicosilasas*), creando en el ADN un lugar apurínico o apirimidínico (*sitio AP*). Estos lugares son detectados por las *endonucleasas AP* que producen una rotura del enlace fosfodiéster contiguo al sitio abásico, eliminándose dicho residuo abásico por la *ADN polimerasa β*, que se encarga de incorporar el nucleótido que sustituye al dañado, siendo cerrado el corte por la *ADN ligasa*.

Tabla 19-5. Sistemas de reparación del ADN

Sistema	Componentes
Reparación o reversión directa	Fotoliasas (dímeros de pirimidinas); O ⁶ -metil-G-ADN metiltransferasa
Reparación de apareamientos incorrectos	Varias proteínas y enzimas: Bacterias: proteínas MutS, MutL, MutH Seres humanos: hMSH2, hMLH1, hPMS1, hPMS2, GTBP/hMSH6
Reparación por eliminación de bases alteradas (BER)	ADN glicosilasas (eliminan uracilo, hipoxantina, bases metiladas, dímeros de pirimidinas, etc.), endonucleasas AP, ADN polimerasa β, ADN ligasa
Reparación por escisión de nucleótidos (NER)	Escinucleasas o endonucleasas de corrección, helicasas, ADN polimerasas (I o δ), ADN ligasa
Reparación por recombinación	Intercambio entre cromátidas. Sistemas de recombinación
Reparación con tendencia al error	ADN polimerasa II y otras enzimas

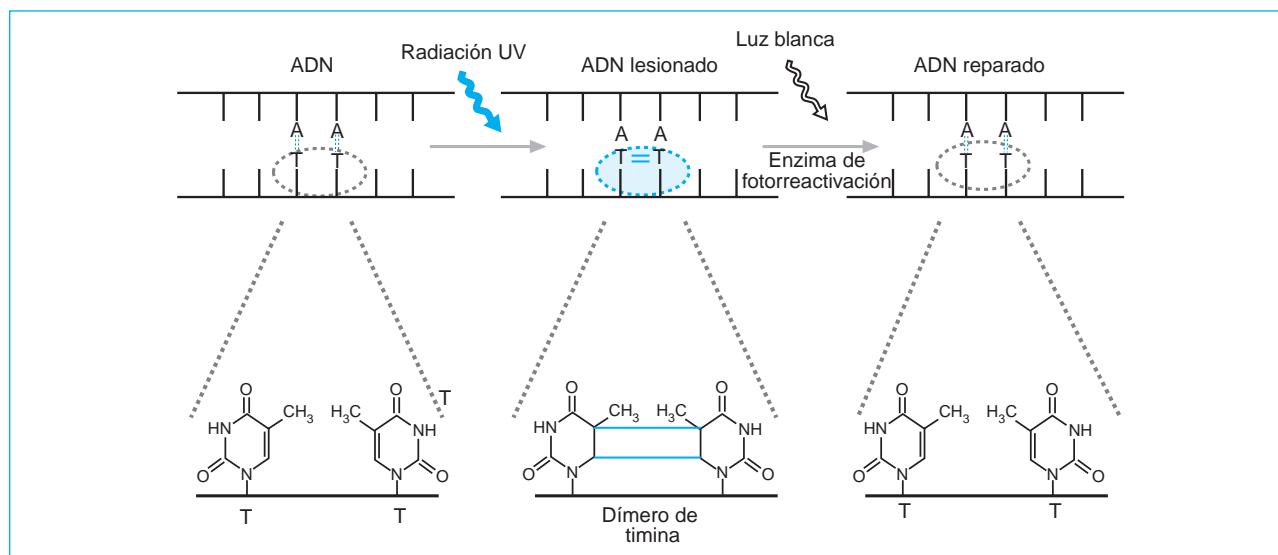


Figura 19-11. Formación de un dímero de timina por la acción de la radiación ultravioleta y su reparación por fotorreactivación enzimática. En la parte inferior se indica la formación del anillo de ciclobutano entre las dos timinas adyacentes.

Otros mecanismos de reparación (*reparación por escisión de nucleótidos o NER*) eliminan el segmento de hebra que contiene la lesión. En un primer paso, las *escinucleasas* o *endonucleasas de corrección* generan incisiones a ambos lados del sitio de la lesión, eliminándose el fragmento dañado por medio de *helicasas* en el proceso de escisión, terminándose con la síntesis reparadora por medio de la *ADN polimerasa I* en bacterias o *ADN polimerasas δ o ε* en eucariotas, y el sellado final por la *ADN ligasa* (Fig. 19-12).

Existen sistemas de reparación que son, incluso, capaces de detectar emparejamientos incorrectos creados durante la replicación (por ejemplo, A-G o A-C), eliminando la base del par que se encuentra en la cadena recién sintetizada (*reparación de apareamientos incorrectos*). En las bacterias, esta reparación es llevada a cabo por proteínas específicas (proteínas MutS, MutL, MutH) que reconocen el apareamiento incorrecto, cortan la hebra no metilada (hebra hija, ya que a diferencia de la paterna todavía no se ha modificado por metilación) y sintetizan el nuevo fragmento de cadena con la participación de la *ADN polimerasa* apropiada (Fig. 19-13).

Las lesiones producidas por radiaciones ionizantes o estrés oxidativo y sus mecanismos de reparación se comentan en el Recuadro 19-1.

En general, la reparación de las lesiones también parece que depende de factores adicionales a la propia maquinaria de replicación. Así, por ejemplo, las lesiones en genes que están siendo transcritos se reparan más rápidamente que las que tienen lugar en secuencias no transcritas. Además, la activación de las proteínas de reparación depende de la puesta en funcionamiento de vías de señalización del daño del ADN. Un compo-

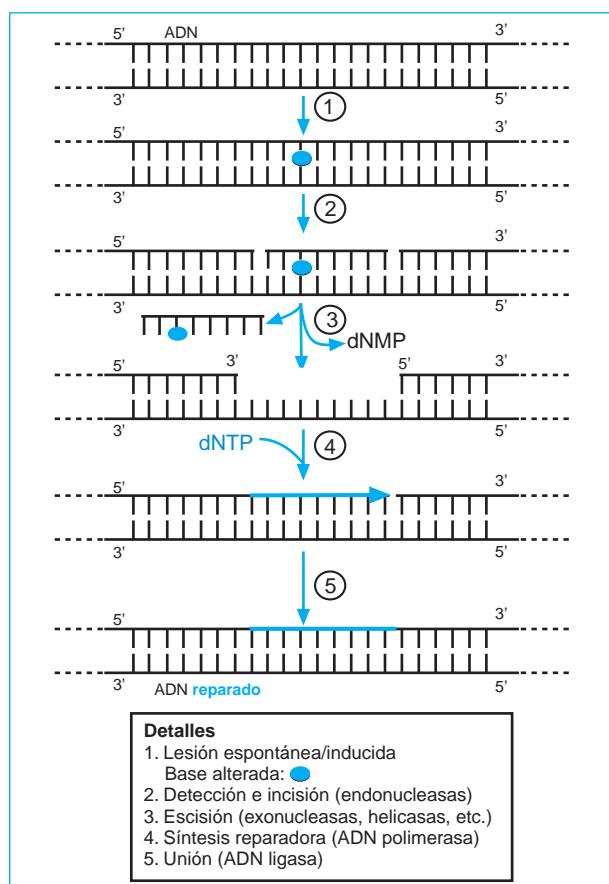


Figura 19-12. Reparación de lesiones del ADN mediante el mecanismo de escisión de nucleótidos. Las enzimas específicas participantes en la reparación varían en los procariotas y eucariotas.

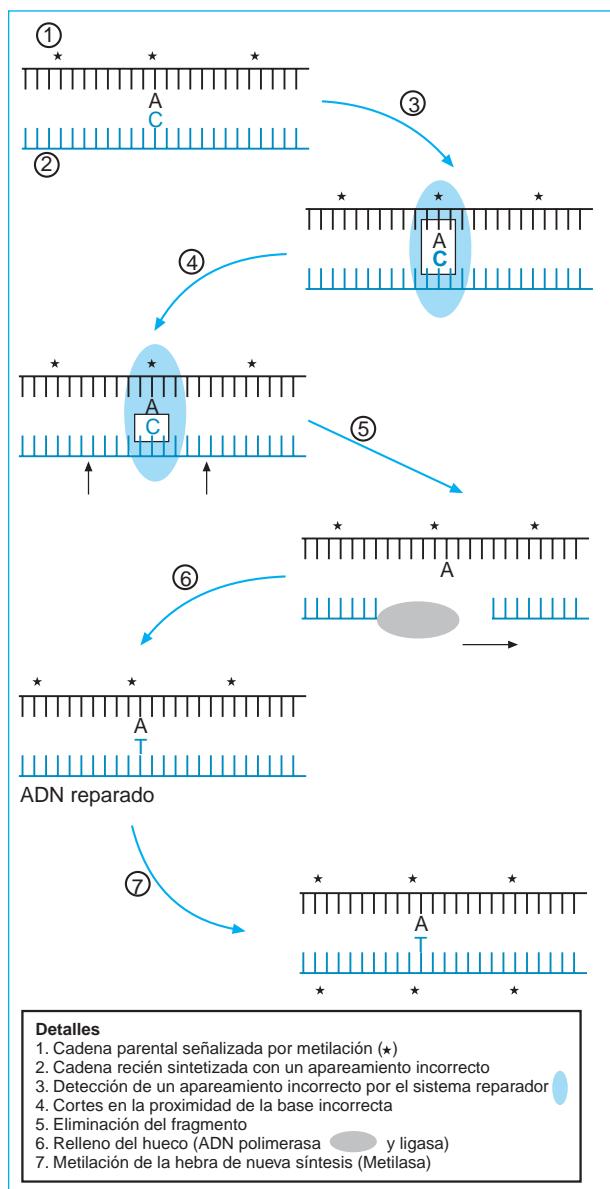


Figura 19-13. Esquema del mecanismo de reparación de apareamientos incorrectos.

nente clave de la vía de señalización en el ser humano es la *proteína p53*, producto del gen supresor *p53* (véase el Cap. 27). Esta proteína realiza varias funciones: activar las enzimas de reparación y retrasar la división celular para evitar la propagación de la alteración, y poner en marcha el proceso de suicidio celular (*apoptosis*) si las lesiones son tan importantes que no pueden ser reparadas, evitando así, la propagación de células potencialmente peligrosas. En el ser humano, las alteraciones de algunos de los sistemas de reparación dan lugar a determinadas enfermedades, y a un aumento de la predisposición a las enfermedades neoplásicas (Recuadro 19-2).

19.4 RECOMBINACIÓN DEL ADN

Como ya se ha comentado en el apartado anterior, la perfección con la que se produce la replicación, unida a la existencia de los mecanismos de reparación del ADN, hace que las moléculas de ADN se transmitan con muy pocos cambios a lo largo de los sucesivos ciclos de división celular. Sin embargo, determinados tipos de células poseen mecanismos que permiten el intercambio de secuencias o fragmentos de ADN entre dos moléculas de ADN idénticas o casi idénticas, o entre moléculas de ADN diferentes (*recombinación*), dando lugar a moléculas de ADN con una nueva combinación o reordenación de su secuencia.

Los mecanismos de recombinación genética son complejos y sólo parcialmente conocidos desde el punto de vista molecular. Aunque una constante en todos ellos es la producción de cortes en las cuatro hebras del ADN (*nucleasas*) y nuevas uniones de los extremos generados (*ligasas*), en muchos casos participan proteínas específicas que reconocen secuencias concretas, *helicasas*, que producen el desenrollamiento parcial del ADN, así como otras proteínas y enzimas.

Hay un tipo de recombinación, denominada *recombinación homóloga o general*, que requiere la presencia de secuencias homólogas en las moléculas de ADN que se van a recombinar y la participación de sistemas enzimáticos específicos, como Rec y Ruv. Como resultado de la misma, se forman nuevas moléculas de ADN, por la rotura y reagrupamiento de hebras de ADN en los puntos de homología (Fig. 19-15a). Este tipo de recombinación tiene lugar, generalmente, entre regiones homólogas alélicas de los pares cromosómicos apareados en la meiosis, y origina una redistribución de los genes paternos y maternos en las células germinales, a la hora de la formación de los gametos, lo que permite nuevas combinaciones de genes en la descendencia.

Otro tipo de recombinación genética, denominada *recombinación específica de lugar o de sitio*, viene mediada por proteínas que reconocen secuencias específicas del ADN (generalmente, no superiores a 25 pares de bases), las cuales pueden estar presentes en una sola molécula de las dos que se van a recombinar (como ocurre en los denominados elementos génicos móviles, o *transposones*) o en las dos (como ocurre en el proceso de integración de determinados virus ADN en el cromosoma de la célula huésped). Un caso muy interesante de la recombinación específica de sitio se produce durante la diferenciación de las células productoras de anticuerpos (véase el Cap. 31). Las células precursoras de los linfocitos B tienen una organización de los genes, o segmentos de ADN que codifican las cadenas polipeptídicas de las inmunoglobulinas, marcadamente diferente a la de la célula productora de un anticuerpo en particular. Así, por ejemplo,

Recuadro 19-1.
CORTES EN LAS CADENAS POLINUCLEOTÍDICAS Y SUS MECANISMOS DE REPARACIÓN

Como se comentó anteriormente, numerosos agentes endógenos y exógenos producen lesiones que afectan a las bases del ADN, que pueden ser reparadas por diferentes mecanismos. El esqueleto de las cadenas polinucleotídicas puede estar también afectado por exposición a radiaciones ionizantes o por estrés oxidativo. Mientras que las roturas o cortes en una sola hebra pueden ser fácilmente selladas por la acción de la *ADN ligasa* (mecanismo 1), las roturas en ambas hebras y en posiciones muy próximas pueden dar lugar a la formación de nuevos extremos en las moléculas de ADN, diferentes a los telómeros, que suelen ser muy reactivos y pueden dar lugar a alteraciones cromosómicas importantes, si no son reparados. Además, cuando se producen este tipo de roturas se generan extremos monocatenarios que son recordados (mecanismo 2).

En los mamíferos existe un mecanismo de reparación de emergencia por unión terminal no homóloga (proceso 3), que conlleva la unión de los extremos y la generación de una molécula con una pérdida de nucleótidos entre los cortes. La posibilidad de que estas pérdidas afecten a genes importantes humanos se ve reducida, dado el bajo

porcentaje de ADN codificante (< 2%) dentro del genoma (véase el Cap. 24). En los eucariotas, también existe otro mecanismo más preciso de reparación de este tipo de lesiones, a través de la recombinación homóloga con el otro cromosoma. Este tipo de reparación funciona mejor en células que han duplicado su ADN y todavía no se han dividido, dada la proximidad de las cromátidas hermanas. La puesta en marcha de estos mecanismos de reparación

parece depender de mecanismos de señalización en los que participa una proteína quinasa (la proteína ATM). Las personas con alteraciones en los genes ATM sufren la enfermedad denominada *ataxia telangiectasia*, mostrando una gran sensibilidad a las radiaciones ionizantes y una alta predisposición a padecer cáncer. En el tratamiento anticanceroso de estos pacientes hay que excluir, evidentemente, la radioterapia.

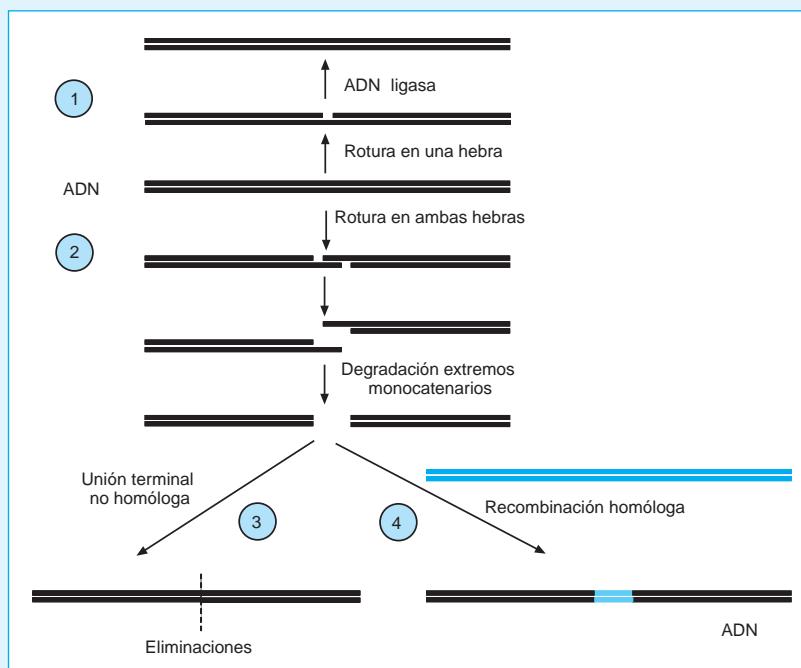


Figura 19-14. Mecanismos de reparación del ADN.

la zona variable de la cadena pesada de una inmunoglobulina concreta está codificada por un fragmento de ADN, que procede de la recombinación de fragmentos que se hallan muy separados en el genoma, y de los que existe gran número de variantes repetidas en *tándem* (Fig. 19-15b). La recombinación aleatoria pero ordenada, de un segmento V con uno D y uno J, en ese orden, se debe a la existencia de unas secuencias específicas de recombinación que flanquean el extremo 3' terminal del V o 5' terminal del J y otras que flanquean ambos extremos de los segmentos D.

Actualmente, se pueden inactivar genes específicos en animales de experimentación mediante la técnica de *susti-*

tución dirigida de genes. En este proceso se reemplaza un gen concreto por una copia inactiva del mismo, modificada en el laboratorio. La sustitución del gen sano por el gen alterado en cultivos celulares se basa en el principio de recombinación homóloga. Con estas células, se pueden transformar embriones para obtener individuos que, mediante cruzamientos, pueden generar animales (*mutantes knockout*) con los dos alelos homólogos inactivos (*abatimiento génico o inhibición genética selectiva*). Estos experimentos son muy útiles a la hora de asignar funciones fenotípicas a genes de productos, tanto conocidos, como desconocidos.

Recuadro 19-2.
**ENFERMEDADES
 RELACIONADAS CON FALLOS
 EN LOS SISTEMAS DE
 REPARACIÓN DEL ADN**

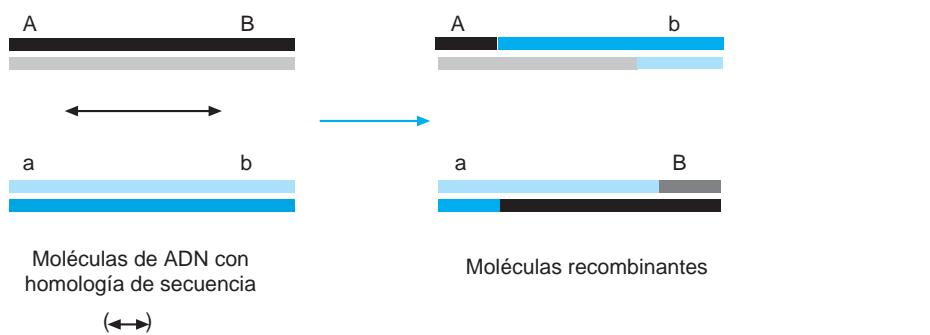
El mal funcionamiento de los sistemas de reparación del ADN puede dar lugar a la acumulación de lesiones en el ADN y a la expansión de mutaciones y alteraciones cromosómicas en las células somáticas. Actualmente, se conocen varias enfermedades hereditarias raras, ocasionalmente presumiblemente en la mayoría de los casos por el mal funcionamiento, en mayor o menor grado, de alguno de los componentes que participan en la detección y reparación de los daños ocasionados en el ADN por diferentes agentes. El fenotipo y la sintomatología clínica de estas enfermedades son diferentes, si

bien comparten ciertos rasgos, como el de una gran sensibilidad a las radiaciones, inestabilidad cromosómica y tendencia a sufrir tempranamente determinados tipos de tumores, entre otros. La *xerodermia pigmentosa*, la *ataxia telangiectasia*, el *síndrome de Cockayne* y el *síndrome de Bloom* son ejemplos de estas alteraciones. En la *xerodermia pigmentosa*, los enfermos presentan una gran sensibilidad a la luz solar, graves problemas cutáneos y una alta tendencia a sufrir cáncer de piel y otros tipos de neoplasias. La falta de alguno de los componentes del complejo denominado XP, que participa en las primeras etapas de la detección y eliminación de los dímeros de timina producidos por la radiación ultravioleta, y por tanto, la incapacidad de reparar este tipo de lesiones, es la causa molecular de la enferme-

dad. El *síndrome de Cockayne* y la *tricotiodistrofia* parecen estar relacionados con fallos, tanto de la transcripción, como de la reparación del ADN, por alteración del FT-IIH (véase el Cap. 20), proteína con actividad helicasa que participa en ambos procesos.

La acumulación de mutaciones en las células somáticas como consecuencia de una reparación defectuosa del ADN puede favorecer el desarrollo de diferentes tipos de cáncer. En este sentido, hay que resaltar que las alteraciones de los genes que participan en la reparación de apareamientos incorrectos se han relacionado con algunos carcinomas hereditarios no poliposos de colon (*síndrome de Lynch*), y que la ausencia del p53 es una característica de muchos tumores malignos y de ciertos cánceres hereditarios (*síndrome de Li-Fraumeni*).

a) Recombinación homóloga



b) Recombinación específica de sitio (► con ◆)

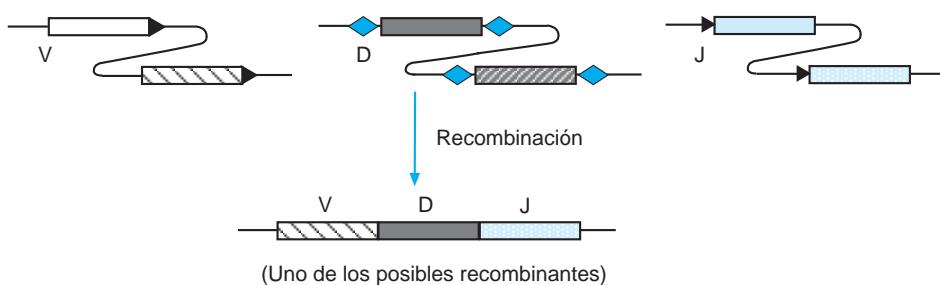


Figura 19-15. Tipos de recombinación. a) Recombinación homóloga (se produce entre secuencias idénticas o muy similares de cromosomas homólogos). b) Recombinación específica de lugar de los genes de las inmunoglobulinas, que tiene lugar en la diferenciación de linfocitos B (existen diferentes variantes de cada uno de los segmentos V, D y J que pueden originar una gran variedad de moléculas recombinantes).

19.5 INHIBIDORES DE LA REPLICACIÓN

La complejidad bioquímica de la replicación determina que, al ser muchas las etapas y los agentes participantes, exista una gran variedad de compuestos que pueden inhibir la síntesis del ADN (Tabla 19-3). Por la similitud entre los procesos de replicación y los de transcripción, algunos de los compuestos inhiben la síntesis, tanto del ADN, como del ARN.

Existen inhibidores que interaccionan con el ADN, lo que afecta a su estructura y a su capacidad para servir de molde en los procesos de replicación y transcripción. Estos inhibidores son muy poco específicos, ya que alteran dichos procesos, tanto en virus, como en células procarióticas y eucarióticas. Algunos de los agentes de este grupo tienen una conformación planar, que les permite intercalarse entre los pares de bases apiladas en el interior de la doble hélice, mientras que otros se unen de forma covalente a ambas cadenas del ADN, evitando su separación.

Determinadas sustancias alteran la síntesis de los ácidos nucleicos, porque inhiben los procesos de síntesis de los nucleótidos (caso de análogos de bases y nucleósidos), o bien, porque se transforman en nucleótidos que, al incorporarse a la cadena en síntesis, paralizan su extensión o crecimiento (caso de los 2',3'-didesoxinucleósidos trifosfato).

Por último, los inhibidores más específicos son aquéllos que interaccionan con alguna de las enzimas implicadas en las diferentes reacciones de la replicación o la transcripción. Dentro de este grupo se incluyen los inhibidores de *ADN polimerasas*, de *topoisomerasas*, de *ADN ligasas*, entre otros, de origen, tanto eucariótico, como procariótico. Los específicos de las enzimas de procarióticas tienen un potencial terapéutico interesante para el tratamiento de enfermedades bacterianas, mientras que determinados inhibidores de las enzimas de los eucariotas, poseen interés como posibles *agentes antineoplásicos*.

RESUMEN

- En la célula existen tres procesos que conllevan la síntesis o generación de nuevas moléculas o segmentos de ADN: replicación, reparación y recombinación.
- La replicación consiste en la duplicación de las moléculas de ADN mediante la polimerización de desoxinucleósidos trifosfato teniendo como molde las cadenas del ADN preexistente.
- La replicación es un proceso semiconservativo, ya que cada una de las moléculas sintetizadas conserva una cadena del ADN preexistente, mientras que la otra es de nueva síntesis.
- La maquinaria de replicación está compuesta por varias decenas de proteínas y enzimas que, de manera coordinada, llevan a cabo la duplicación de las moléculas de ADN.
- Tanto los procariotas como los eucariotas llevan a cabo la replicación de su ADN utilizando maquinarias y mecanismos muy similares, aunque con características particulares.
- En los procariotas, la replicación de su cromosoma circular es monofocal, iniciándose en el origen de replicación y progresando de forma bidireccional, a través de dos horquillas de replicación hacia el punto de terminación, donde confluyen y finaliza la síntesis.
- En cada horquilla de replicación, la síntesis es semidiscontinua, ya que una de las nuevas hebras se sintetiza de manera continua (hebra adelantada) mientras que la otra es sintetizada de manera discontinua (hebra retrasada), generándose transitoriamente fragmentos de Okazaki, que son unidos posteriormente.
- En los eucariotas, la replicación de las moléculas de ADN del núcleo celular tiene lugar durante una fase concreta del ciclo celular (fase S), siendo multifocal, bidireccional e incompleta en los extremos 5' de los telómeros de la mayoría de las células.
- Entre las enzimas fundamentales para la formación de enlaces fosfodiéster en las moléculas de ADN se incluyen: a) las *ADN polimerasas* dependientes de ADN, que llevan a cabo la síntesis de nuevas cadenas en la dirección 5'→3', requiriendo la presencia de una hebra con las bases desapareadas (molde) y de una cadena preexistente a la que añadir el nucleótido (cebador); b) la *enzima cebadora* que sintetiza el cebador de ARN; c) la *ADN ligasa* que une los fragmentos de ADN generados.
- Determinadas enzimas se encargan de la apertura de las cadenas de ADN que tienen que copiarse (*helicasas de ADN*), mientras que otras, como las *topoisomerasas*, regulan el grado de superenrollamiento del ADN. Las *nucleasas* (*exonucleasas*, *ARNasas*) se encargan de eliminar los fragmentos de ARN utilizados como cebadores.
- Diversas proteínas realizan funciones auxiliares durante los procesos de iniciación, elongación y terminación.
- *Telomerasa* es una enzima de naturaleza ribonucleoproteica, existente en determinadas células eucarióticas, que evita el acortamiento de los extremos de ADN de las moléculas del ADN de los cromosomas nucleares.
- La replicación es un proceso con una tasa de errores muy baja, debido, tanto a la precisión de las *ADN polimerasas* y a su actividad correctora, como a la existencia de mecanismos de reparación de apareamientos incorrectos.
- Las moléculas de ADN pueden alterarse no solamente como consecuencia de errores replicativos, sino también por la acción de diversos agentes endógenos y exógenos que producen alteraciones, tanto de las bases, como del esqueleto polinucleotídico.
- Existen diferentes mecanismos que corrigen o reparan las lesiones sufridas por las moléculas de ADN: reversión simple, escisión de bases y escisión de nucleótidos.
- Determinadas alteraciones genéticas relacionadas con fallos en los mecanismos de reparación dan lugar a varias enfermedades, en las que existe una alta incidencia de formación de tumores.
- Mediante los mecanismos de recombinación homóloga y la recombinación específica de sitio se producen reorganizaciones de secuencias dentro de las moléculas de ADN, lo que contribuye al aumento de la variabilidad genética.

EVALUACIÓN

1. (A). Procesos de síntesis de los ácidos nucleicos:
 - a. En la transcripción se sintetiza ADN.
 - b. Tanto la replicación, como la transcripción requieren la participación de moléculas de ADN.
 - c. Las *polimerasas de ARN y ADN* son enzimas procesivas.
 - d. El ADN mitocondrial se replica fundamentalmente durante la fase S.
 - e. Hay más de una respuesta correcta.

2. (B). Nucleasas y replicación del ADN:
 1. La actividad *exonucleasa 3'→5'* de las *ADN polimerasas* tiene misión correctora.
 2. En los eucariotas, la eliminación del cebador es llevada a cabo por la *primasa*.
 3. La *ADN polimerasa I* tiene actividad exonucleasa *5'→3'*.
 4. Las *topoisomerasas* eliminan los fragmentos de Okazaki.

a b c d e

3. (A). Replicación en los procariotas:
 - a. Es un proceso semiconservativo.
 - b. Es multifocal.
 - c. La *ADN polimerasa III* sintetiza cadenas de ADN en la dirección *3'→5'*.
 - d. Termina en la región OriC.
 - e. Todo lo anterior es falso.

4. (B). Replicación de los cromosomas eucarióticos:
 1. Tiene lugar durante la fase S.
 2. La ADN polimerasa α lleva asociada la actividad cebadora.
 3. Requiere de la síntesis de histonas.
 4. El antígeno nuclear de células proliferantes (PCNA) se asocia a la ADN polimerasa δ .

a b c d e

5. (B). Síntesis del ADN:
 1. Consume desoxinucleósidos trifosfato.
 2. Se puede inhibir por sustancias orgánicas que se intercalan entre los pares de bases.
 3. La velocidad de elongación en una horquilla es mayor en los procariotas que en los eucariotas.
 4. Su mecanismo es idéntico en ambas hebras de la horquilla de replicación.

a b c d e

6. (B). Enzimas de la replicación del ADN en células eucarióticas:
 1. En la mitocondria, los cebadores son creados por la *ARN polimerasa mitocondrial*.
 2. La *ADN ligasa* consume ATP para unir los extremos de fragmentos contiguos.
 3. En la síntesis del ADN en la hebra adelantada participa la *ADN polimerasa δ* .
 4. La *telomerasa* participa en la formación del cebador.

a b c d e

7. (A). Replicación de los cromosomas eucarióticos:
 - a. El ARN de la *telomerasa* posee secuencias similares a las de los telómeros.
 - b. El ADN correspondiente al centrómero nunca se replica.
 - c. La replicación comienza en el centrómero y avanza hacia los telómeros.
 - d. Las regiones de heterocromatina se replican antes que las de eucromatina.
 - e. Hay más de una respuesta correcta.

8. (C). La separación de las cromátidas hermanas en la mitosis se produce antes de la división celular PORQUE una de las células formadas recibe el cromosoma preexistente, mientras que la otra recibe el recién sintetizado.

a b c d e

9. (A). Mecanismos de reparación de lesiones del ADN:
 - a. Todas las lesiones se reparan por reversión simple.
 - b. La reparación por escisión de nucleótidos requiere de *ADN glicosilasas*.
 - c. Las *endonucleasas AP* eliminan los dímeros de timina.
 - d. Los enfermos de *xeroderma pigmentosa* tienen defectos en la reparación de los dímeros de timina.
 - e. Hay más de una respuesta correcta.

10. (B). Recombinación y reparación del ADN:
 1. La luz ultravioleta destruye los dímeros de timina.
 2. La recombinación homóloga requiere una analogía de secuencia entre las moléculas de ADN a recombinar.
 3. La reparación de apareamientos incorrectos funciona sólo en los procariotas.
 4. La recombinación específica de sitio es utilizada por los transposones.

a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilera A: La recombinación homóloga del ADN. *Inv y C* 2002; julio: 58-67.
- Bujalowski W: Expanding the physiological role of the hexameric DnaB helicase. *TiBS* 2003; 28: 116-118.
- Cleaver JE: Xeroderma pigmentosum: the first of the cellular caretakers. *TiBS* 2001; 26: 398-401.
- Roca J: Topoisomerasa de ADN de tipo II. *Inv y C* 2003; diciembre: 40-49.
- Soultanas P, Wigley DB: Unwinding the ‘Gordian knot’ of helicase action. *TiBS* 2001; 26: 47-54.
- Wood JG, Sinclair DA: TPE or not TPE? It’s no longer a question. *TiBS* 2001; 23: 1-4.

SÍNTESIS DEL ARN: TRANSCRIPCIÓN

20

20.1 INTRODUCCIÓN

La *transcripción* es el proceso por el cual la información cifrada en forma de secuencia de cuatro bases (A, T, C, G) en una cadena de ADN se plasma en una información escrita en el mismo lenguaje (cuatro bases: A, U, C, G), en forma de cadena de ARN. Desde un punto de vista químico, es un proceso de síntesis de ARN a partir de cuatro ribonucleósidos trifosfato (ATP, GTP, CTP y UTP) y de ADN, que actúa como molde.

Aunque el resultado global de la transcripción es la síntesis de los diferentes tipos de moléculas de ARN celulares (ARNr, ARNt, ARNm, etc.), cada molécula de ARN es sintetizada de manera individual, como consecuencia de la transcripción de una zona concreta del ADN (denominada *unidad de transcripción*), de pequeña longitud si se compara con la de las moléculas de ADN. De las dos cadenas de la unidad de transcripción, sólo una de ellas es transcrita. La hebra codificadora o con sentido (también, hebra +), tiene la misma secuencia que el ARN transcripto (con T, en lugar de U). La hebra complementaria que actúa como molde para la síntesis de ARN se denomina hebra antisentido (hebra -).

La transcripción es un proceso *selectivo*, es decir, la síntesis de ARN no comienza o termina en puntos al azar, sino que se transcriben zonas concretas, con un principio y un final preestablecido. Además, no todos los genes o zonas del ADN se transcriben simultáneamente y con la misma frecuencia. Esto determina que la abundancia de los diferentes tipos de ARN sea variable, a pesar de que existe un número de copias equiparables de los mismos en el ADN. La transcripción es un proceso *reiterativo*, ya que una zona concreta del ADN se puede copiar repetidamente, dando lugar a la

formación de copias múltiples de una determinada molécula de ARN. Existen mecanismos reguladores que determinan cuándo y con qué frecuencia va a ser transcripto un gen concreto por la maquinaria de transcripción, siendo estos mecanismos más complejos en los organismos eucarióticos que en los procarióticos. Por último, la transcripción es un proceso *conservativo* del ADN, ya que éste no resulta modificado una vez que ha sido transcripto.

20.2 TRANSCRIPCIÓN DE LOS GENES EN LOS PROCARIOTAS

En las bacterias existe una única enzima, denominada *ARN polimerasa dependiente de ADN*, que se encarga de transcribir todos los genes del cromosoma bacteriano, dando lugar a la formación de los tres tipos fundamentales de ARN (ARNr, ARNt y ARNm). La enzima de *E. coli* está formada por un conjunto de subunidades diferentes (α , β , β' , ω y σ) que forman la denominada *holoenzima*, la cual participa sintetizando ARN de manera específica.

La *subunidad σ* , que se encuentra unida débilmente al resto de la enzima (*enzima núcleo*), es la responsable de reconocer los lugares en los que ha de comenzar la síntesis de ARN, mientras que la enzima núcleo se encarga propiamente de la síntesis del ARN. En la Figura 20-1 se representa esquemáticamente una unidad de transcripción, en la que el nucleótido +1 representa el punto de iniciación, es decir, la posición del primer nucleótido que es copiado (y que, por tanto, se corresponde con el primer nucleótido del extremo 5' del ARN que se va a sintetizar) y el +n corresponde al último nucleótido que se transcribe. El sentido de la cadena de ADN

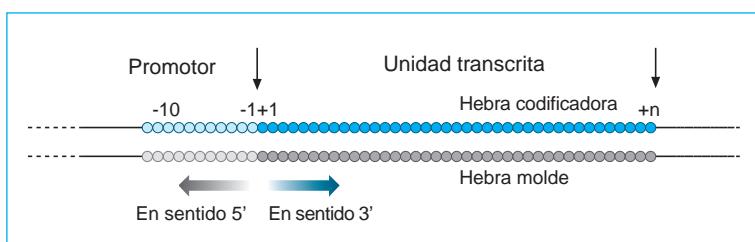


Figura 20-1. Componentes de la unidad de transcripción.

codificante, que va desde +1 a +n, se corresponde con el sentido $5' \rightarrow 3'$, por lo que la cadena complementaria, o molde, se lee en el sentido $3' \rightarrow 5'$. El sentido que corresponde al desplazamiento de la enzima sobre el gen se denomina usualmente como en sentido $3'$ («aguas abajo»), por lo que las secuencias que van de -1 a $-n$ se denominan secuencias en sentido $5'$ («aguas arriba»).

La zona en sentido $5'$ adyacente al nucleótido +1 se denomina *promotor*, y es el lugar reconocido por la subunidad σ , y donde se localiza la *ARN polimerasa* para comenzar la transcripción. La mayor parte de los promotores de *E. coli* tienen secuencias cortas parecidas (*secuencias consenso*) localizadas sobre las posiciones -10 y -35 (promotores estándar). La primera de ellas se denomina *secuencia TATA o caja de Pribnow*, cuya secuencia consenso representante es el hexanucleótido TATAAT, mientras que la segunda tiene como secuencia consenso TTGAC. La subunidad σ más abundante en *E. coli* (denominada σ^{70}) reconoce a estos promotores estándar, con mayor afinidad cuanto más próxima esté la secuencia del promotor a las secuencias consenso (lo que hace que existan *promotores fuertes y débiles*). Sin embargo, un número reducido de genes tiene promotores no relacionados con los promotores estándar, que son reconocidos por formas minoritarias de la subunidad σ (como σ^{32} o σ^{54}), por lo que, en definitiva, el tipo de subunidad σ unido a la *ARN polimerasa* tiene gran influencia para la selección de los genes que se han de transcribir.

El proceso de síntesis, representado en la Figura 20-2, se puede considerar dividido en tres etapas, denominadas *iniciación*, *elongación* y *terminación*. En la primera, la holoenzima se une al promotor (formación del *complejo cerrado*) y favorece la apertura parcial de las dos cadenas de ADN (*complejo abierto*), con la consiguiente ruptura de los enlaces por puentes de hidrógeno de las bases próximas al lugar +1, el establecimiento de puentes de hidrógeno entre las bases de los dos primeros nucleótidos que van a formar el enlace fosfodiéster y las bases de la cadena molde, y la formación de un dinucleótido por ataque del hidroxilo $3'$ del primer NTP (que suele ser GTP o ATP) al fosfato α de la posición $5'$ del segundo nucleótido.

A partir de aquí comienza la fase de elongación o crecimiento de la cadena, llevada a cabo por la *ARN polimerasa* núcleo, tras la liberación de la subunidad σ , en la que se van formando nuevos enlaces entre nucleótidos seleccionados por el molde, con lo que la cadena de ARN va aumentando progresivamente sus unidades en la dirección $5' \rightarrow 3'$. En la proximidad de la *ARN polimerasa* se mantiene la formación del híbrido ADN/ARN (alrededor de 14 pares de bases), pero, a medida que avanza la polimerasa, el ARN sintetizado se despega del ADN volviéndose a formar la estructura dúplex del ADN (Fig. 20-3).

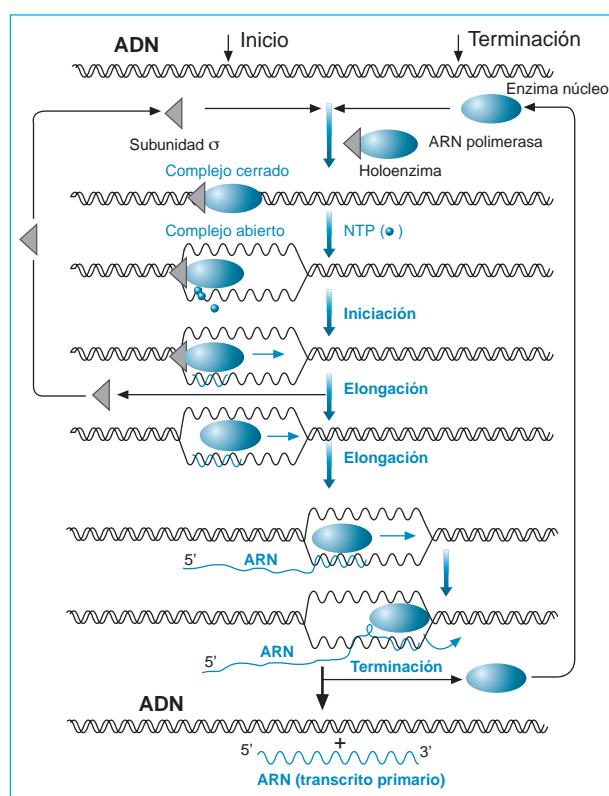


Figura 20-2. Mecanismo de la transcripción en las bacterias. La enzima núcleo de la ARN polimerasa se une a la subunidad σ para formar la holoenzima que reconoce al promotor, formando el complejo cerrado de iniciación. Tras la apertura del dúplex, la ARN polimerasa interacciona con los dos primeros nucleósidos trifosfatos que se aparean con las primeras bases del molde dando lugar al inicio de la síntesis del ARN. Tras la iniciación, la subunidad σ se separa de la holoenzima, y la enzima núcleo continúa elongando la cadena de ARN en la dirección $5' \rightarrow 3'$, desplazándose sobre el molde hasta alcanzar el sitio de terminación, donde acaba la síntesis y se libera el transcripto de ARN.

La transcripción continúa hasta el punto de terminación, donde cesa el crecimiento de la cadena y se produce la separación de la *ARN polimerasa* y el ARN sintetizado, o *transcripto primario*, del ADN. Antes de que finalice la síntesis de un ARN, sobre el promotor puede volver a iniciarse de nuevo el proceso, tras la unión de la holoenzima al promotor. Cuando la síntesis es rápida se inicia cada 2 segundos, avanzando la enzima núcleo con una velocidad de aproximadamente 50 nucleótidos por segundo. El mecanismo de la terminación es poco conocido, aunque se sabe que, tanto ciertas proteínas (terminadoras, como la *proteína ρ* —ro— y anti-terminadoras), como determinadas secuencias en forma de horquilla en el ARN sintetizado, participan desestabilizando a la polimerasa, facilitando el cese de la transcripción y la separación del transcripto primario.

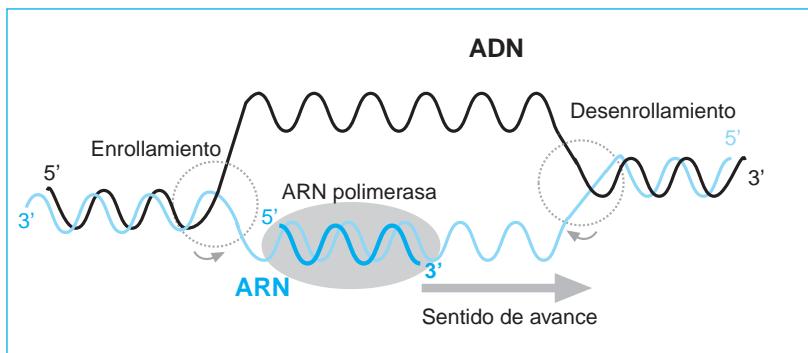


Figura 20-3. Detalle de la interacción de la ARN polimerasa con el ADN durante la transcripción. El ARN naciente se encuentra apareado por medio de una docena de pares de bases con la hebra molde de ADN. Este híbrido o burbuja se desplaza en sentido 3', a medida que progresa la transcripción, hasta llegar al punto de terminación donde se rompe dicho complejo.

Las unidades de transcripción en los procariotas suelen estar formadas por más de un gen, por lo que el ARNm resultante, denominado *ARNm policistrónico*, lleva la información para la síntesis de dos o más cadenas polipeptídicas diferentes. En las bacterias, la transcripción está regulada por proteínas que, bien directamente o bien, por interacción con otros factores, se unen al ADN para estimular (*control positivo*) o disminuir (*control negativo*) la transcripción de una determinada unidad o gen (véase el Cap. 22).

20.3 TRANSCRIPCIÓN EN LOS EUCA RIOTAS

La transcripción del ADN nuclear en los eucariotas es muy similar a la que tiene lugar en las bacterias, en lo que se refiere al proceso de síntesis de la cadena de ARN, aunque, tanto las enzimas participantes, como la organización de las uni-

dades de transcripción y sus promotores son muy diferentes a las de los procariotas. Así, se conocen tres *ARN polimerasas nucleares* distintas, cada una de las cuales participa en la síntesis de un tipo determinado de ARN (Tabla 20-1). Además, existe una *ARN polimerasa dependiente de ADN* localizada en la mitocondria (*ARN polimerasa mitocondrial*) que se encarga de la síntesis de los ARN mitocondriales.

Los genes de los eucariotas se pueden clasificar, de acuerdo con la *polimerasa* que los transcribe, en genes de tipo I (codifican las cadenas grandes de ARNr), de tipo II (codifican ARNm) y de tipo III (codifican ARNt, ARNr 5 S y otros ARN de tamaño pequeño). Los promotores de estos genes son diferentes: así, los de los tipos I y II se encuentran en sentido 5', mientras que los del tipo III se localizan, tanto en sentido 5' como en sentido 3' (en posiciones intrágénicas).

Las *ARN polimerasas nucleares*, para llevar a cabo la transcripción, requieren una serie de factores auxiliares que

Tabla 20-1. ARN polimerasas dependientes de ADN en los eucariotas

Enzima	Localización	ARN sintetizado	Promotores	Sensibilidad F α -amanitina	actores de transcripción
ARN polimerasa I	Nucleolo	Pre-ARNr mayores	En sentido 5'	Nula	UBF, SL1, TBP, TAF.
ARN polimerasa II	Nucleoplasma	ARNhn (pre-ARNm) ARN telomerasa ARNsn	En sentido 5' (basal y proximal). En sentido 5' o 3' (intensificadores o silenciadores)	Grande	FTIIA, FTIIB, FTIID (TBP, TAF), FTIIE, FTIIF, FTIIH. Sp1, CTF, etc. Activadores, represores, coactivadores, correpresores.
ARN polimerasa III	Nucleoplasma	Pre-ARNt Pre-ARNr 5S ARNsn	En sentido 5' Posiciones internas	Débil	FTIIIA, FTIIIB, FTIIC, TBP, TAF.
ARN polimerasa mitocondrial	Mitocondria	Pre-ARNmt	En sentido 5'	Nula	FTAm. TFERm.

participan en el proceso de iniciación, favoreciendo la localización o anclaje de la *ARN polimerasa* en el lugar de comienzo de la síntesis de ARN y la formación del complejo basal de transcripción, que incluye la activación de la *ARN polimerasa*. Estos factores auxiliares denominados genéricamente *factores de transcripción*, o *factores trans* son proteínas que interaccionan específicamente con secuencias cortas concretas del ADN (en la zona promotora) o elementos *cis*, así como con otros factores proteicos y con la *ARN polimerasa* correspondiente. En definitiva, los factores de transcripción, junto con la *ARN polimerasa*, forman un complejo multiproteico que es capaz de comenzar la síntesis del ARN en lugares adecuados.

Los factores de transcripción se clasifican en *generales* (están presentes en todos los tipos de células) y *específicos* o *inducibles* (se sintetizan o activan en tejidos determinados y en un momento concreto). Dentro de los factores de transcripción generales, los denominados *factores basales* son necesarios para el inicio de la síntesis del ARN en todos los promotores, ya que interactúan con secuencias de ADN y con la *ARN polimerasa* en la zona vecina al punto de iniciación, formando un complejo de reclutamiento que es capaz de interactuar con otros factores adicionales que reconocen secuencias en sentido 5' del punto de iniciación y que varían en función del gen concreto, aumentando la eficacia de la iniciación. Muchos factores específicos reconocen secuencias concretas, generalmente localizadas en sentido 5', denominadas *elementos de respuesta* (ER).

En los genes de los eucariotas, cada promotor posee un conjunto característico de secuencias cortas concretas o elementos *cis*, que son reconocidas por su correspondiente factor de transcripción o elemento *trans* (Fig. 20-4). Las *ARN polimerasas I* y *III* reconocen un conjunto restringido de promotores, en conjunción con sus factores de transcripción generales correspondientes, denominados FT-I y FT-III, res-

pectivamente, y de los que existen varios para cada *ARN polimerasa*. Los promotores de los genes transcritos por la *ARN polimerasa I* se encuentran en la zona en sentido 5' adyacente al inicio de la transcripción, mientras que en el caso de la *ARN polimerasa III* existen secuencias promotoras localizadas en la parte interior del gen. La *ARN polimerasa II* interacciona con un gran número de promotores diferentes, que poseen una gran variedad de secuencias específicas cortas con una disposición modular.

La mayor parte de los promotores de los genes de tipo II posee una *secuencia TATA* (o *caja de Hogness*), localizada unos 25 pares de bases en sentido 5' del punto de iniciación (la cual es reconocida por el FT-IIID) y la *secuencia Inr*, localizada próxima al nucleótido +1, que constituyen el denominado promotor basal. Estas secuencias determinan la posición de inicio de la síntesis del ARN. El promotor proximal está formado por secuencias diferentes, que se encuentran localizadas en sentido 5' del promotor basal (secuencia o *caja CAAT*, secuencia o *caja CG*, secuencia octamérica, etc.), que interactúan con *factores de transcripción específicos*, y que influyen en la frecuencia de iniciación. En la transcripción de los genes constitutivos participan este tipo de elementos reguladores. En la transcripción de los genes regulables del tipo II también influyen de manera notable otras secuencias localizadas a una considerable distancia del punto de iniciación (*promotor distal*), en posiciones en sentido 5' o 3', que se denominan *intensificadores* o *acrecentadores* (*enhancers*).

Un acrecentador posee secuencias modulares concretas que interactúan con factores tisulares específicos (*activadores*) para producir la activación de la transcripción del gen o genes regulados por dicho elemento. Tanto los acrecentadores como el promotor pueden contener elementos de respuesta (ER), que hacen que los genes que los poseen sean sensibles a la presencia de determinados agentes reguladores

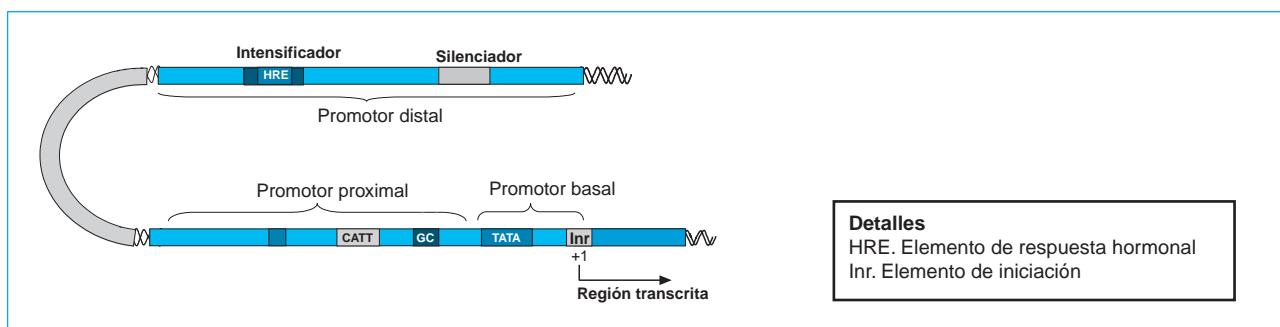


Figura 20-4. Esquema de la región reguladora de un gen eucariótico transcrit por la ARN polimerasa II. En el promotor basal suelen existir la secuencia TATA y la secuencia Inr. En el promotor proximal existen diferentes elementos cis, y mucho más alejados (en sentido 5' como en la figura, aunque también en sentido 3') existen elementos intensificadores o silenciadores que pueden contener HRE. Cada uno de estos elementos cis interacciona con una proteína o factor trans.

(hormonas, segundos mensajeros, iones metálicos, temperatura elevada, etc.). Las secuencias acrecentadoras sólo funcionan en aquellos tejidos donde se expresa su factor *trans* correspondiente. Las proteínas reguladoras de la transcripción específicas de tejido reconocen secuencias concretas que pueden estar próximas al promotor o en regiones más

alejadas y, de alguna forma, se relacionan con el complejo de transcripción basal para favorecer la transcripción. En el Recuadro 20-1 se comentan algunos aspectos de la formación de complejos macromoleculares, en la iniciación y elongación de la transcripción de los genes en los eucariotas, así como algunas de las enfermedades asociadas.

Recuadro 20-1. COMPLEJOS MACROMOLECULARES EN LA INICIACIÓN Y ELONGACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN DE LOS GENES EN LOS EUCAΡIOTAS: ENFERMEDADES ASOCIADAS

La unión de las ARN polimerasas a sus genes correspondientes para dar comienzo a la transcripción es un proceso muy complejo. En él se necesita una serie de proteínas auxiliares que se unen al ADN y que posibilitan, tanto el anclaje o reclutamiento de la ARN polimerasa sobre el inicio de la unidad de transcripción, como su posterior avance sobre la hebra a transcribir. Aunque el conjunto de las proteínas auxiliares de la transcripción es diferente, en función de la polimerasa en cuestión, algunas proteínas, como la TBP, participan en la iniciación de la transcripción con las tres polimerasas nucleares. La TBP (proteína de unión a la secuencia TATA o «TATA binding protein») es una proteína monomérica que se une a la secuencia TATA del promotor de la mayor parte de los genes eucarióticos transcritos por la ARN polimerasa II, y sirve para la creación de un complejo multiproteico con, al menos, ocho proteínas denominadas TAF (factores asociados a TBP). Este complejo de transcripción, llamado FT-IIID, es capaz de reclutar al FT-IIA, aumentando la unión de aquél al ADN y posibilitando la entrada de un nuevo factor, el FT-IIB, el cual va a actuar como puente para la unión de la ARN polimerasa. Esta aproximación al ADN de la ARN polimerasa, que estaba asociada al FT-IIF, es crítica para el comienzo de la transcripción. Una vez que la ARN polimerasa se ha unido al complejo, se asocian al mismo nuevos factores de transcripción: FT-IIE, FT-IIH

y FT-IIJ. El FT-IIH es, a su vez, un complejo multiproteico con actividades *proteína quinasa* (fosforila el dominio C-terminal de la ARN polimerasa) y *helicasa* (facilita la apertura de la doble hélice), que parece ser muy importante para el proceso de elongación (Fig. 20-5).

En el proceso de elongación, también participa una serie de complejos moleculares que, de alguna manera, facilitan el avance de la ARN polimerasa sobre el gen que se transcribe. Proteínas como las CSB, ELL o *elonguinas* actúan en la formación de estos complejos.

La alteración de algunas de estas proteínas se ha relacionado con diferentes enfermedades. Así, la proteína CSB,

que estimula la velocidad de elongación de la ARN polimerasa II, está mutada en el *síndrome de Cockayne*, y dicho defecto parece que afecta a la reparación de los dímeros de timina que bloquean la elongación (es decir, al sistema de reparación del ADN acoplado a la transcripción). Por otra parte, la alteración de las *elonguinas* B y C podría tener un cierto papel en la oncogénesis, a través de su interacción con la proteína VHL, producto del gen supresor tumoral *von Hippel-Lindau*. Finalmente, conviene recordar que en la leucemia mieloide aguda se han encontrado translocaciones de genes que codifican proteínas ELL (proteínas ricas en lisina), reguladoras de la velocidad de síntesis del ARN.

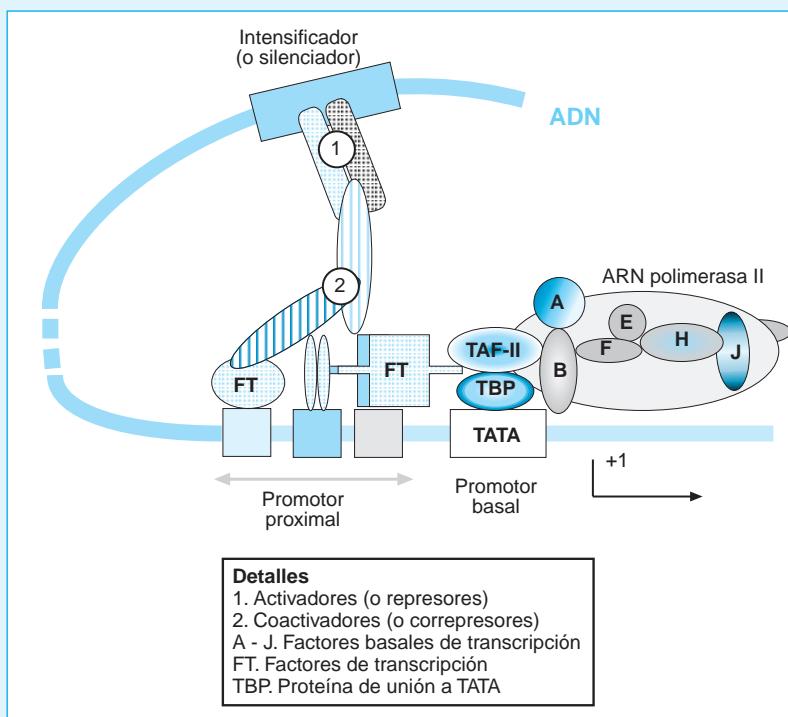


Figura 20-5. Esquema hipotético de la interacción de los elementos cis y trans con coactivadores, correpresores y ARN polimerasa II en el inicio de la transcripción.

Aunque los procesos de activación de la transcripción parecen ser frecuentes para muchos genes, se conoce otro tipo de secuencias reguladoras que interaccionan con proteínas específicas, pero que disminuyen la transcripción. Este tipo de secuencias se denominan *silenciadoras* o *supresoras* e interactúan con *proteínas represoras*. En algunos casos, la interacción de estas proteínas con el aparato basal de transcripción se hace mediante la acción de proteínas interpuestas denominadas *coactivadoras* o *correpresoras*. En definitiva, en cierta manera, el grado de expresión del gen va a ser el resultado de un *control combinatorio* entre diferentes secuencias y factores de transcripción inducibles. En la Figura 20-5 se representa un esquema hipotético que intenta explicar cómo dos secuencias que están separadas por miles de pares de bases pueden encontrarse espacialmente muy próximas, mediante el plegado de la doble hélice y la interacción entre proteínas que se unen al promotor y al acrecentador.

Las *ARN polimerasas* nucleares son enzimas complejas formadas por diferentes tipos de subunidades. La unión de la *ARN polimerasa II* con el ADN es débil, necesitando la presencia de factores basales de transcripción que, primero se unan al ADN y después, interactúan con la *ARN polimerasa* y otros factores proteicos, que dan lugar a la formación de complejos de reclutamiento de la maquinaria de transcripción sobre el ADN y la activación de la *ARN polimerasa*. En este sentido, se sabe que la activación de la *polimerasa* requiere de la fosforilación del dominio carboxilo terminal de su subunidad mayor (*CTD*) por medio de la actividad *quinasa* del FTIIH.

Aunque el reclutamiento del complejo de iniciación en la zona promotora es crítico para el comienzo de la transcripción, la velocidad de síntesis del ARN también está condicionada por la velocidad de elongación o de avance de la *ARN polimerasa* sobre la unidad de transcripción. En el proceso de elongación, participa una serie de *factores de elongación* generales (factor b de elongación de la transcripción o TEFb, factor ELL, CSB o elonginas A, B y C) cuyo mecanismo de acción no se conoce con detalle. Tampoco se conocen los mecanismos que controlan la terminación de la transcripción llevada a cabo por la *ARN polimerasa II*. Se estima que, tanto la presencia de proteínas terminadoras, como la desestabilización del híbrido ARN/ADN participan en la terminación de la síntesis del ARN. En cualquier caso es necesario que se produzca la desfosforilación de la *ARN polimerasa II* antes de que pueda participar de nuevo en el proceso de iniciación.

La *ARN polimerasa mitocondrial* está formada por una sola cadena polipeptídica que transcribe ambas hebras del ADNmt dando lugar a tres transcriptos primarios L1, L2, y H que llevan la información de los genes mitocondriales. En este proceso participan también un factor de transcripción mitocondrial (FTAm) y un factor de terminación (FTERm).

20.4. INHIBIDORES DE LA TRANSCRIPCIÓN

Al igual que ocurre con la replicación, la complejidad bioquímica de la transcripción hace que, al ser muchas las etapas y agentes participantes, exista una gran variedad de compuestos que la pueden inhibir.

El antibiótico *actinomicina D*, así como otros agentes que se unen al ADN, inhiben la transcripción de manera inespecífica, siendo, por tanto, sustancias muy tóxicas para las células. La actinomicina D se intercala en el dúplex de ADN preferentemente entre pares G-C consecutivos. Otros compuestos intercalantes como las *acridinas*, la *adriamicina* y la *daunomicina* son utilizados como *agentes antitumorales*.

Otros inhibidores de la transcripción son más específicos, pues inhiben las *ARN polimerasas*, enzimas clave en la síntesis del ARN. Las *rifamicinas*, así como su derivado semi-sintético, la *rifampicina*, bloquean la síntesis del ARN en las bacterias, porque inhiben la iniciación de la cadena del ARN. Otros compuestos, como la *estreptolidigina*, inhiben la elongación, a través de su unión a la subunidad β . Las *ARN polimerasas* nucleares de mamíferos no son inhibidas por la rifampicina, por lo que ésta se ha utilizado en el tratamiento antibacteriano. Sin embargo, el hecho de que inhibía la *ARN polimerasa* mitocondrial implica que este fármaco debe utilizarse con precaución para no producir alteraciones mitocondriales.

Los inhibidores de las *ARN polimerasas* nucleares son, lógicamente, sustancias muy tóxicas para las células eucarióticas. Así, por ejemplo, una de las toxinas del hongo venenoso *Amanita phalloides*, la α -*amanitina*, es un potente inhibidor de la *ARN polimerasa II* que produce el bloqueo de la formación de los precursores de los ARNm. La *heparina* es un inhibidor de la transcripción ya que, por su naturaleza polianiónica, al igual que el ADN, se une fuertemente a las *ARN polimerasas*. Los inhibidores de las topoisomerasas que introducen y eliminan superenrollamientos en el ADN, producen también de manera indirecta la inhibición de la transcripción.

20.5 PROCESOS POSTTRANSCRIPCIONALES

El producto directo de la transcripción o transcripto primario sufre en muchos casos una serie de modificaciones estructurales necesarias para que la molécula del ARN sea funcional. Estas modificaciones se producen mediante una serie de procesos, denominados *posttranscripcionales*, que afectan en mayor o menor grado a los diferentes tipos de ARN, sobre todo en las células eucarióticas (Fig. 20-6).

El procesamiento postranscripcional comprende tres tipos fundamentales de reacciones: *recorte* de la cadena poli-

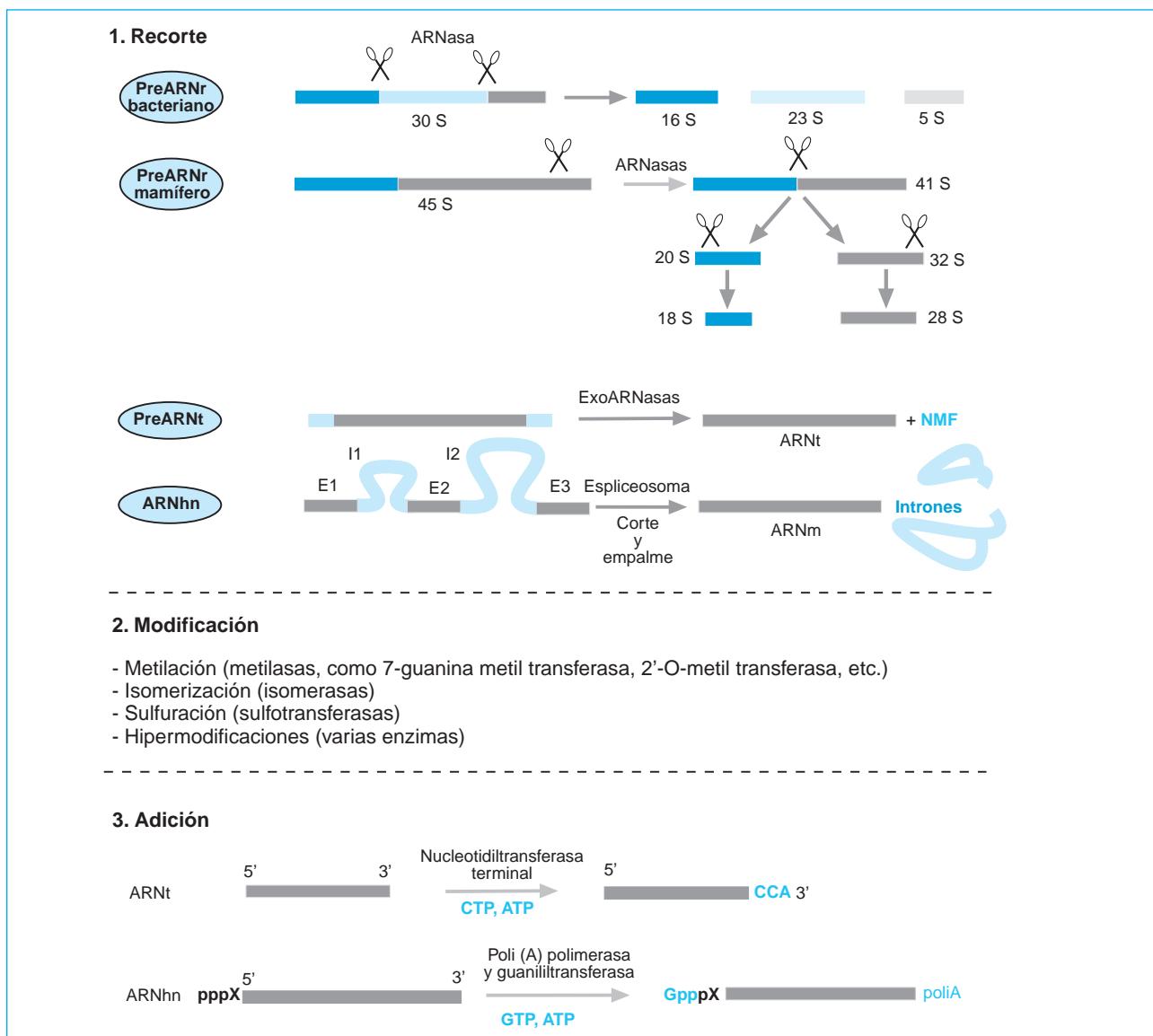


Figura 20-6. Procesos de modificación postranscripcional de los diferentes tipos de ARN.

nucleotídica, *modificación* de bases y nucleósidos y *adición* de secuencias a ambos extremos de la cadena del ARN.

Las moléculas de ARNr y ARNt, tanto en los procariotas como en los eucariotas, sufren reacciones de recorte y modificación de nucleótidos. En el caso de los ARNr, se sintetizan a partir de un precursor de mayor tamaño que es recortado por ARNasas, para dar lugar a varias moléculas de ARNr de tamaño más reducido. En las bacterias, los tres tipos de ARNr (ARNr 23S, ARNr 16S y ARNr 5S) se forman mediante el recortado de un único precursor de mayor tamaño. El proceso de síntesis y maduración de los ARNr en el núcleo tiene lugar en el *nucleolo*, participando en el proceso

de modificación moléculas de ARN guía, denominadas ARN nucleolar pequeño (ARNsno). Tres de los cuatro ARNr (ARNr 28S, ARNr 18S y ARNr 5.8S) se forman a partir de un precursor de mayor tamaño, mientras que el cuarto (ARNr 5S) es sintetizado a partir de otro transcripto sintetizado por la ARN polimerasa III. Un pequeño porcentaje de las ribosas de los ARNr son modificadas por metilación del hidroxilo 2', así como determinados nucleótidos de uridina se isomerizan hasta nucleótidos de pseudouridina.

En el procesamiento de las moléculas de ARNt, también se produce un recorte terminal de los extremos 5' y 3', así como la adición, a las moléculas que no la posean, de la

secuencia -CCA en el extremo 3'. Las moléculas de ARNt, sobre todo, sufren igualmente importantes reacciones de modificación química de bases y nucleósidos, lo que hace que en las moléculas maduras abunden nucleótidos diferentes a los cuatro típicos que participan en la síntesis del ARN. Estas modificaciones contribuyen a hacer más resistentes estas moléculas a los procesos de degradación celular, aumentando, por tanto, su estabilidad metabólica o vida media.

Las moléculas precursoras de los ARNm de los eucariotas, a diferencia de los ARNm de procariotas, se sintetizan bajo la forma de moléculas precursoras de un tamaño mucho mayor (*ARN heterogéneo nuclear*, ARNhn), que se transforman en el núcleo celular mediante una serie de recortes especiales (*corte y empalme* o «*splicing*») en moléculas de menor tamaño (Fig. 20-6). Igualmente, se forma una estructura característica en el extremo 5', denominada *caperuza* (adicción y metilación de GTP en el extremo 5' con formación de un enlace fosfodiéster atípico 5'→5'), mientras que en el extremo 3' se añaden secuencialmente residuos adenílicos (hasta 200) para formar la *cola de poli(A)*, previo recorte de parte del extremo 3' del transcripto primario, a la derecha de la *señal de poliadenilación* AAUAAA.

Estos procesos de maduración de los ARNm de los eucariotas tienen lugar en el núcleo celular y son catalizados por una serie compleja de enzimas diferentes (Tabla 20-2). Algunas de estas enzimas, como las que participan en la formación de la caperuza se encuentran asociadas al CTD fosforilado de la *ARN polimerasa II*, lo que permite que estos ARN se vayan modificando a medida que se sintetizan. Dichos procesos son necesarios para la salida al citoplasma de las moléculas de ARN «maduro» correspondientes. La eliminación de los intrones y la unión de los exones (Fig. 20-7a) se realizan mediante procesos de *splicing* del ARN por medio de un mecanismo de *trans-esterificación*, con la participación de un complejo ribonucleoproteico nuclear denominado *espliceosoma* o partícula de *splicing* y la hidrólisis de ATP.

El *espliceosoma* está formado por la asociación de moléculas de ARN de tamaño pequeño, ricas en U (U1 a U6), con proteínas nucleares (más de 50), dando lugar a diferentes agregados de ribonucleoproteínas (denominados *snurps*) que participan en la identificación de las zonas del ARNhn que se han de cortar y unir, ensamblándose sobre la molécula de ARNhn. En este proceso, las regiones limítrofes de los intrones (punto de empalme 5' y punto de empalme 3') y el punto central de ramificación, desempeñan un papel importante,

Tabla 20-2. Maduración del ARNm de los eucariotas

1. Formación de la caperuza	2. Splicing (corte y empalme)	3. Formación de la cola de poli(A)
<ul style="list-style-type: none"> • Fosfatasa • ARNm-guanililtransferasa • ARNm-guanina(N7) metiltransferasa/SAM • ARNm-nucleósido-2'-O-metiltransferasa/SAM 	<p>• <i>Espliecosoma</i>: conjunto de ribonucleoproteínas (<i>snurps</i>) formadas por ARNsn (100-300 nucleótidos) ricos en U y varias decenas de proteínas</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Reconocimiento de la señal de poliadenilación. • Actuación de <i>nucleasa</i> • Formación de la cola de poli(A) a partir de ATP por <i>poli(A) polimerasa</i>

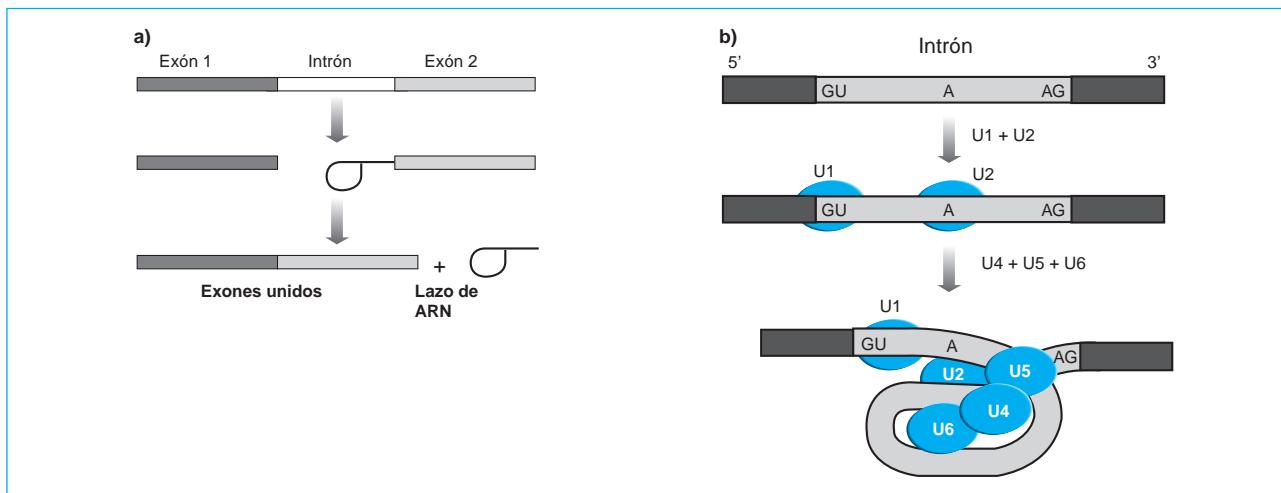


Figura 20-7. Splicing del ARNhn. a) Eliminación de un intrón y unión de exones. b) Interacción de los distintos componentes del espliceosoma con las secuencias 5', 3'y de ramificación de un intrón, previa al procesamiento y eliminación del mismo.

existiendo secuencias consenso con ciertas características fundamentales para el establecimiento de los sitios de corte (todos los intrones comienzan por GU y acaban en AG), lo que hace pensar en la existencia de interacciones específicas entre las secuencias críticas de los intrones y los ARN nucleares pequeños de los espliceosomas (Fig. 20-7b). Un pequeño porcentaje de los intrones en los mamíferos se elimina mediante mecanismos de *splicing* minoritarios, ligeramente diferentes al descrito.

Se estima que sólo un 5% de la masa del ARNhn sintetizado sale del núcleo. El resto, que corresponde a los intrones procesados y a parte del extremo 3' que se elimina para llevar a cabo la poliadenilación, es degradado por un complejo multiproteico con actividad *exoARNasa*, denominado *exosoma*. Este sistema enzimático también participa en la degradación de moléculas de ARNm que no han sido debidamente procesadas, disminuyendo la probabilidad de que moléculas de ARNm aberrantes alcancen el citoplasma.

Determinadas moléculas de ARNm eucariótico sufren un tipo especial de inclusión o sustitución de bases dentro de la secuencia codificante u ORF (pauta abierta de lectura), que se denomina *editado del ARNm*. Esta modificación afecta en mayor o menor grado a la secuencia de la proteína codificada. En el ARNm de los tripanosomas y las plantas se produce un editado extensivo que consiste en la inclusión o eliminación de residuos U en la molécula del ARNm utilizando un ARN guía que posee en el extremo 3' una cola de poli(U). En los mamíferos, en algunos ARNm tiene lugar un editado muy específico que consiste en la sustitución de C por U, o de A por I, por medio de desaminaciones enzimáticas (*citidina desaminasa*, ADARs o *adenosina desaminasa de ARN*), que tienen como consecuencia la sustitución de un aminoácido por otro o la generación de proteínas truncadas por cambiar un triplete codificador de aminoácido por un triplete de terminación. Este editado limitado parece tener importancia en la síntesis de determinados canales iónicos, apolipoproteínas o en el desarrollo del sistema hematopoyético (véase el Cap. 22).

RESUMEN

- La transcripción es el proceso de síntesis del ARN a partir de ATP, GTP, CTP y UTP, utilizando la información o secuencia del ADN, que actúa como molde.
- La transcripción es un proceso selectivo (se inicia y termina en puntos específicos), reiterativo (se puede transcribir varias veces el mismo gen) y conservativo del ADN.
- La transcripción de una de las dos cadenas del gen o unidad de transcripción origina una molécula monocatenaria de ARN de longitud variable, denominada transcripto primario, que presenta una secuencia idéntica a la cadena codificante o con sentido del ADN (con uracilo en lugar de timina).
- La transcripción es un proceso complejo en el que participan enzimas y proteínas auxiliares, que puede dividirse en tres etapas fundamentales: iniciación, elongación y terminación.
- La iniciación requiere la apertura del dúplex y la formación del primer enlace fosfodiéster entre los dos nucleótidos que interaccionan con el molde.
- En la elongación se produce el crecimiento de la cadena de ARN en la dirección 5' → 3', con la consiguiente separación temporal de las dos hebras del ADN en el lugar de la síntesis activa del ARN.
- En la terminación tiene lugar la interrupción de la síntesis de la cadena de ARN, propiciada, bien por la presencia de proteínas terminadoras o bien, por la formación de estructuras secundarias en la molécula del ARN sintetizada, que desestabilizan el proceso transcripcional.
- Las enzimas fundamentales del proceso de la transcripción son las *ARN polimerasas* dependientes de ADN, las cuales aparte de catalizar la formación de los enlaces fosfodiéster durante el proceso biosintético se encargan de interaccionar con secuencias específicas de ADN o con proteínas auxiliares para determinar los puntos de iniciación y de terminación de la transcripción.
- El promotor del gen, localizado generalmente en la zona contigua al inicio de la transcripción, es fundamental para la unión de la *ARN polimerasa* y el comienzo de la transcripción.
- En las bacterias una única *ARN polimerasa* se encarga de sintetizar todos los tipos de ARN presentes en estos organismos: ARNr, ARNt y ARNm.
- En las células eucarióticas existen diferentes *ARN polimerasas* localizadas en el núcleo (denominadas I, II y III) y una *ARN polimerasa* mitocondrial, especializadas en la síntesis de tipos específicos de ARN.
- La *ARN polimerasa I* sintetiza los ARNr mayores; la *II*, los ARN nucleares heterogéneos que conducen a la formación de los ARNm, y la *III*, los ARNt y otros ARN de tamaño pequeño.
- Las *ARN polimerasas* nucleares necesitan para su actividad e interacción con el ADN de la presencia de proteínas auxiliares, denominadas factores de transcripción.
- Existen factores de transcripción generales de cada una de las polimerasas nucleares y una serie de factores de transcripción específicos de la *ARN polimerasa II*, que condicionan el grado de transcripción de los genes codificantes de las proteínas.
- Los factores de transcripción generales son necesarios para la transcripción basal de los genes correspondientes.
- Los factores de transcripción específicos, o elementos *trans*, actúan a manera de reguladores, facilitando (activadores) o impidiendo (represores) la transcripción de un gen a través de sus uniones con secuencias específicas (elementos *cis*) del ADN denominadas potenciadores o silenciadores y con otras proteínas (coactivadores o correpresores) que afectan a la actividad de la *ARN polimerasa II* o el remodelado de la cromatina.
- La transcripción del ADN mitocondrial por la *ARN polimerasa* mitocondrial presenta una serie de características específicas.
- Se conocen diversos inhibidores de la transcripción, tanto en procariotas, como en eucariotas, que tienen interés como agentes antibacterianos o antitumorales.
- La mayoría de los transcriptos primarios están sujetos a una serie de modificaciones postranscripcionales, de gran importancia para la estabilidad y funcionalidad de las moléculas de ARN maduro.
- Con la excepción del ARNm procariótico, todos los demás tipos de ARN sufren en mayor o menor grado procesos de maduración postranscripcional mediante reacciones de recortado, adición y modificado de bases.
- Las moléculas precursoras de los ARNt experimentan modificaciones de los tres tipos, mientras que las de los ARNr, fundamentalmente, de recortado.
- El ARN nuclear heterogéneo sufre en el núcleo celular una importante serie de modificaciones antes de ser exportado al citosol, que incluyen la formación de la caperuza en el extremo 5', la adición de la cola de poli (A) al extremo 3', y el proceso de corte y unión (*splicing*) de eliminación de intrones y unión de exones.
- Algunas moléculas de ARNm sufren un proceso especial de editado o de sustitución de ciertas bases, que afecta a la secuencia de la proteína codificada.

EVALUACIÓN

1. (A). Transcripción:
 - a. El transcripto primario tiene una secuencia idéntica a la hebra antisentido del ADN.
 - b. En el ADNmt se transcriben ambas cadenas.
 - c. Es un proceso que comienza de forma aleatoria e inespecífica.
 - d. Antes del inicio, las dos cadenas de la unidad de transcripción se desaparecen en toda su longitud.
 - e. Hay más de una respuesta correcta entre las anteriores.

2. (B). Síntesis del ARN en las bacterias:
 1. Una única enzima sintetiza los diferentes tipos de ARN.
 2. En el inicio de la síntesis participa la holoenzima de la *ARN polimerasa dependiente de ADN*.
 3. La proteína ρ (ρ) participa en la terminación de la transcripción.
 4. La subunidad σ es clave en el proceso de elongación.

a b c d e

3. (A). Promotores de los genes en los procariotas:
 - a. Están localizados en la zona intermedia de la unidad de transcripción.
 - b. Corresponden a secuencias que se encuentran en sentido 5' pero próximos al lugar +1.
 - c. Todos los promotores tienen una caja TATA y son reconocidos por la subunidad σ^{32} .
 - d. Suelen estar muy alejados del sitio de comienzo de la transcripción.
 - e. Todo lo anterior es falso.

4. (B). *ARN polimerasas* eucarióticas:
 1. La III sintetiza los precursores de los ARNt.
 2. La II sintetiza los ARN mitocondriales.
 3. Las nucleares están formadas por diferentes tipos de subunidades.
 4. Todas se inhiben por la α -amanitina.

a b c d e

5. (B). Factores de transcripción:
 1. También son conocidos como factores *cis*.
 2. Los basales suelen unirse a las secuencias potenciadoras.
 3. Todos interaccionan con el ADN, pero ninguno con la ARN polimerasa.
 4. Interaccionan con sus dianas localizadas fundamentalmente en el citoplasma.

a b c d e

6. (B). Regulación de la transcripción nuclear:
 1. Los activadores y coactivadores participan en la regulación de genes específicos.
 2. Los elementos de respuesta a hormonas (HRE) son proteínas a las que se unen las hormonas lipofílicas.
 3. Determinados factores de transcripción fosforilan y activan la *ARN polimerasa II*.
 4. Las secuencias silenciadoras codifican para factores de transcripción de la *ARN polimerasa I*.

a b c d e

7. (A). Inhibidores de la transcripción:
 - a. La actinomicina D inhibe de manera específica la *ARN polimerasa I*.
 - b. La α -amanitina es un potente inhibidor de la *ARN polimerasa* mitocondrial.
 - c. La rifampicina inhibe la síntesis de ARNm en el núcleo.
 - d. Los de bacterias pueden inhibir la transcripción en las mitocondrias.
 - e. Hay más de una respuesta correcta.

8. (C). Las moléculas de ARNm son bastante más pequeñas que las de su correspondiente ARNh PORQUE las secuencias correspondientes a los intrones suelen tener una longitud muy superior a las de los exones.

a b c d e

9. (A). Procesos postranscripcionales:
 - a. A todas las moléculas de ARN nuclear se les añade una cola de poli(A) en el extremo 3'.
 - b. La *ARNt-nucleotidil transferasa terminal* participa en la formación de la caperuza de los ARN.
 - c. En los eucariotas, la mayoría de ellos tiene lugar en el citoplasma.
 - d. Las modificaciones de bases son frecuentes en los ARNt.
 - e. Hay más de una respuesta correcta.

10. (B). Síntesis de ARNm:
 1. En las bacterias, la modificación del ARNm es prácticamente inexistente.
 2. El espliceosoma juega un papel fundamental en la maduración del ARNm eucariótico.
 3. La secuencia de poliadenilación está más próxima al extremo 3' que al 5'.
 4. En algunos ARNm eucarióticos se sustituye C por U después de la transcripción.

a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Bach M: Corte de intrones y empalme de exones. *Inv y C* 1992; mayo: 60-68.
- Dieci G, Sentenac A: Detours and shortcuts to transcription reinitiation. *TiBS* 2003; 28: 202-209.
- Gamble MJ, Freedman LP: A coactivator code for transcription. *TiBS* 2002; 27: 165-167.
- Gerber AP, Keller W: RNA editing by base deamination: more enzymes, more targets, new mysteries. *TIBS* 2001; 26: 376-384.
- Holmberg CI, Tran SEF, Eriksson JE *et al*: Multisite phosphorylation provides sophisticated regulation of transcription factors. *TIBS* 2002; 27: 619-627.
- Latchman DS: Transcription factors: bound to activate or repress. *TiBS* 2001; 26: 211-213.
- Lau NC, Bartel DP: Interferencia de ARN. *Inv y C* 2003; octubre: 6- 13.
- Moyszis RK: El telómero humano. *Inv y C* 1991; octubre: 24-30.
- Pombo A: Cellular genomics: which genes are transcribed, when and where? *TiBS* 2003; 28: 6-9.
- Sousa R: A new level of regulation in transcription elongation? *TiBS* 2001; 26:695-697.

BIOSÍNTESIS DE LAS PROTEÍNAS: TRADUCCIÓN

21

21.1 PRINCIPIOS GENERALES DE LA TRADUCCIÓN

La síntesis de las proteínas, o *traducción*, es una etapa importante dentro del proceso global de la expresión génica, ya que permite, en último término, que la información genética almacenada en las moléculas de los ácidos nucleicos se plasme en forma de proteínas, que son los componentes estructurales y funcionales básicos para la organización y el funcionamiento de la célula (proteoma).

La estructura tridimensional de una proteína depende, en gran medida, de la secuencia u orden lineal de los aminoácidos dentro de la cadena polipeptídica. Este orden se establece de manera rigurosa en el momento de su síntesis, por lo que el mecanismo que consigue el ordenamiento de los aminoácidos es de vital importancia para la célula.

La información que determina la secuencia proteica está especificada en el ADN, en forma de secuencia de las cuatro bases nitrogenadas (A, T, C, G) características de este tipo de ácido nucleico. La unidad de codificación o codón viene determinada por una secuencia de tres bases que se corresponden con un determinado aminoácido. La estructura primaria de un polipéptido, es decir, su secuencia de aminoácidos, está escrita en un segmento concreto de ADN denominado gen, en el que las bases nitrogenadas de una de las dos cadenas del ADN forman una sucesión de bases que se leen en forma de tripletes y en el sentido 5' → 3' (*pauta o fase abierta de lectura*, u *ORF*).

La relación existente entre los diferentes tripletes y los aminoácidos proteicos se conoce como *código genético*. Esta información, cifrada en el ADN, no se transmite de manera directa a las proteínas, sino que se comunica a través de moléculas intermediarias de ARN, que ejercen un papel importantísimo, no sólo en el transporte de la información genética, sino también en el descifrado de la misma y en la constitución de la maquinaria celular que va a llevar a cabo el proceso de síntesis proteica, en la que desempeñan un papel fundamental los *ribosomas*. Existen tres tipos principales de ARN que participan activamente en el proceso de síntesis de las proteínas y que, de acuerdo con su función, se clasifican en *ARN mensajero* (ARNm), *ARN de transferencia*

(ARNt) y *ARN ribosomal o ribosómico* (ARNr). Aunque estas moléculas son muy similares desde un punto de vista químico (polinucleótidos monocatenarios), presentan estructuras tridimensionales y funciones diferentes.

La molécula de ARN, resultado de la transcripción de un gen codificador de una cadena polipeptídica determinada y que lleva la información correspondiente al gen, se denomina ARN mensajero, ARNm. Existen tantas moléculas de ARNm distintas como genes, y en unas proporciones que reflejan, fundamentalmente, la frecuencia de transcripción de los distintos genes. Estas moléculas de ARNm son de un tamaño mucho menor que el de las moléculas de ADN, y portan una sucesión de codones a lo largo de su secuencia, equivalente a la del gen a partir del cual se han copiado. La lectura o descifrado de este mensaje, utilizando la molécula de ARNm como molde o plantilla, por la maquinaria biosintética de proteínas, va a dar lugar a la unión de aminoácidos por medio de enlaces peptídicos, en una ordenación determinada.

El ARNm, a diferencia del ADN u otros tipos de ARN, presenta en general una gran *inestabilidad metabólica*, por lo que su vida en el interior de la célula es limitada. Esta inestabilidad del mensajero implica que para la síntesis continua de una determinada proteína debe existir una síntesis permanente de su ARNm, lo que requiere una transcripción activa del gen correspondiente. Los ARNm bacterianos suelen tener una vida media muy corta (del orden de minutos), mientras que los mensajeros de los eucariotas suelen tener una supervivencia mayor. Ésta no es la única diferencia entre los ARNm de procariotas y eucariotas: así, los ARNm de los procariotas sufren procesos de síntesis mucho más sencillos que los de los eucariotas.

El transcripto primario resultante de la transcripción de un gen bacteriano codificador de proteínas se puede utilizar directamente como ARNm, sin ninguna modificación ulterior, mientras que los ARNm de los eucariotas se sintetizan bajo la forma de moléculas de mayor tamaño, que necesitan sufrir una serie de procesos postranscripcionales hasta poder ser utilizados como ARNm. Estas diferencias están determinadas fundamentalmente por la dispar organización de las células procarióticas y eucarióticas, así como por la mayor

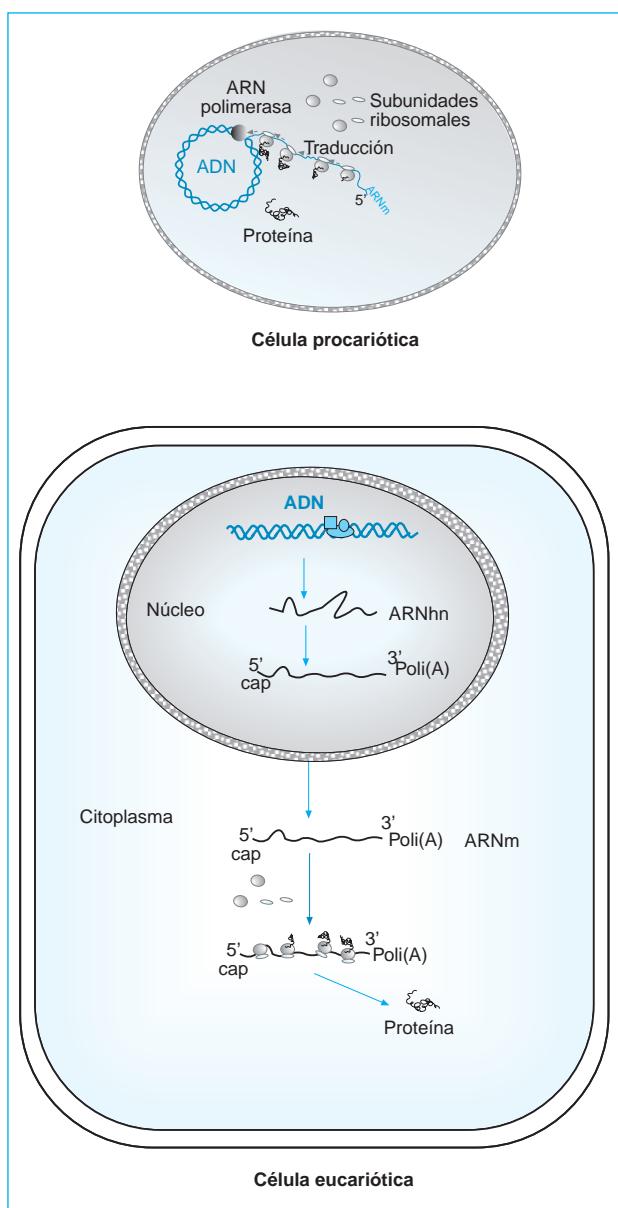


Figura 21-1. Comparación de los procesos de expresión génica entre las células procarióticas y eucarióticas.

complejidad de la información de los genes eucarióticos. En las células procarióticas, al encontrarse el ADN y los ribosomas en el mismo compartimento, el ARNm naciente puede ser utilizado como molde para la síntesis de las proteínas, produciéndose un *acoplamiento* entre los procesos de transcripción y traducción.

En las células eucarióticas, la existencia del núcleo celular hace que el ARN primario producto de la transcripción de un gen no pueda utilizarse como molde hasta que no se procese y exporte al citoplasma, lugar de la síntesis de las

proteínas (Fig. 21-1). El ARNm utilizado por los ribosomas del citosol eucariótico ha tenido que atravesar la membrana nuclear y ha sufrido una serie de modificaciones químicas (véase el Cap. 20), tanto de adición y modificación de bases, como de recorte o eliminación de secuencias no codificadoras, que se encontraban separando secuencias codificadoras. Por ello, el precursor nuclear del ARNm maduro posee un tamaño considerablemente mayor y constituye el denominado *ARN heterogéneo nuclear* (ARNhn). Esta maduración compleja del ARNm eucariótico es reflejo de la sorprendente organización intragénica de la mayor parte de los genes de los eucariotas (véase el Cap. 18).

21.2 CÓDIGO GENÉTICO

La secuencia de ARNm está escrita en un alfabeto compuesto por cuatro letras (las bases nucleotídicas A, U, C, G) y se lee de forma unidireccional por el ribosoma en «palabras» de tres letras (*codones* o *tripletes*) formadas por tres bases consecutivas. Existen 64 combinaciones diferentes de las cuatro bases para formar tripletes (4^3), por lo que es posible establecer una relación entre los 20 aminoácidos diferentes que participan en la síntesis de las proteínas y los 64 codones. Esta relación se conoce como *código genético*. Así pues, se puede considerar que el código genético es como una especie de diccionario que sirve para traducir la información escrita en el lenguaje de las cuatro bases nucleotídicas de los ácidos nucleicos al lenguaje de los 20 aminoácidos que participan en las proteínas. Un código formado por palabras de una base ($4^1 = 4$ palabras diferentes) o de dos bases ($4^2 = 16$ palabras o dobletes diferentes) no sería suficiente para establecer una correlación con los 20 aminoácidos proteicos. En la Tabla 21-1 se muestran los 64 codones y su relación con los aminoácidos. Como se puede apreciar, 61 de los 64 codones codifican aminoácidos, mientras que tres de ellos (UAA, UAG y UGA) no codifican ningún aminoácido; estos últimos se denominan *codones sin sentido* y se utilizan como señales de terminación del mensaje (*codones de terminación*).

Una característica del código (conocida como *degeneración*) hace referencia al hecho de que la mayor parte de los aminoácidos está codificada por más de un codón, conociéndose como *codones sinónimos* el conjunto de codones diferentes que codifican un mismo aminoácido. La mayor parte de los codones sinónimos comparte las dos primeras bases del triplete, por lo que las mutaciones de una base en el ADN en las posiciones que corresponden a la tercera base pueden no afectar a la secuencia de la proteína codificada. Esta propiedad permite atenuar el efecto deletéreo de las mutaciones puntuales.

Tabla 21-1. Código genético

	2. ^a letra					
	U	C	A	G		
1. ^a letra	U	UUU Phe	UCU Ser	UAU Tyr	UGU Cys	U
		UUC Phe	UCC Ser	UAC Tyr	UGC Cys	C
		UUA Leu	UCA Ser	UAA stop	UGA stop	A
		UUG Leu	UCG Ser	UAG stop	UGG Trp	G
	C	CUU Leu	CCU Pro	CAU His	CGU Arg	U
		CUC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg	C
		CUA Leu	CCA Pro	CAA Gln	CGA Arg	A
		CUG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg	G
	A	AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser	U
		AUC Ile	ACC Thr	AAC Asn	AGC Ser	C
		AUA Ile	ACA Thr	AAA Lys	AGA Arg	A
		AUG Met	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg	G
	G	GUU Val	GCU Ala	GAU Asp	GGU Gly	U
		GUC Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly	C
		GUA Val	GCA Ala	GAA Glu	GGA Gly	A
		GUG Val	GCG Ala	GAG Glu	GGG Gly	G

El mensaje cifrado en la secuencia del ARNm se lee a partir del denominado *triplete de iniciación* (AUG), en el sentido 5' → 3', y de manera no solapada, de tres en tres bases, y finaliza cuando aparece en la pauta de lectura alguno de los tres tripletes de terminación (Fig. 21-2). La secuencia comprendida entre el triplete de iniciación y el de terminación se suele denominar como *cistrón* o pauta abierta de lectura (*ORF*). Los ARNm bacterianos pueden ser *policistrónicos*, poseyendo varias ORF diferentes. Los ARNm eucarióticos son *monocistrónicos*, estando formados por un ORF principal, aunque en algunos casos puede existir un ORF corto, entre el principal y el extremo 5' (uORF). Entre

nación se suele denominar como *cistrón* o pauta abierta de lectura (*ORF*). Los ARNm bacterianos pueden ser *policistrónicos*, poseyendo varias ORF diferentes. Los ARNm eucarióticos son *monocistrónicos*, estando formados por un ORF principal, aunque en algunos casos puede existir un ORF corto, entre el principal y el extremo 5' (uORF). Entre

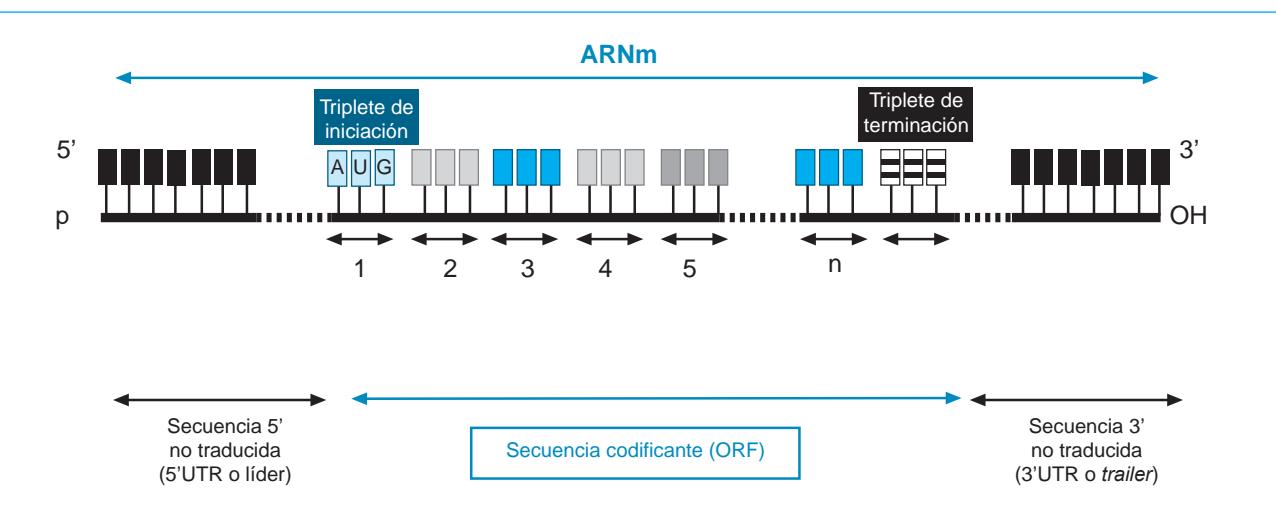


Figura 21-2. Organización de tripletes en la secuencia del ARNm.

Recuadro 21-1.

RECODIFICACIÓN TRADUCCIONAL

La secuencia de la cadena polipeptídica que se sintetiza en los ribosomas, mediante la lectura de un ARNm, refleja la ordenación de los diferentes codones dentro de la secuencia codificante del mismo. Sin embargo, en determinados casos, se han apreciado ligeras diferencias entre las mismas, como consecuencia de lo que podría denominarse *recodificación tradicional*.

Una de las causas de este fenómeno está relacionada con ciertas excepciones referentes a la universalidad del código genético. Así, por ejemplo, en el patógeno humano *Candida albicans*, el codón CUG codifica serina, mientras que en la gran mayoría de los organismos codifica leucina. El código genético utilizado por las mitocondrias también muestra una serie de desviaciones, en relación con el código estándar: los codones para arginina AGA y AGG en la mitocondria de determinadas especies significan codones de terminación; el codón de terminación UGA se tradu-

ce como codificador de triptofano y el AUA, que en el código nuclear corresponde a isoleucina, es interpretado en la mitocondria de mamíferos como metionina. Se desconocen las causas que han generado estas diferencias, así como la significación biológica que puedan tener.

Otro ejemplo lo constituye la presencia del aminoácido *selenocisteína* en determinadas enzimas. Este aminoácido, en el que el azufre de la cisteína se ha sustituido por selenio, no se genera por modificación postraduccional de un residuo aminoacídico presente en la cadena polipeptídica, sino que se incorpora en la síntesis de ésta a través de un aminoacil-ARNt específico capaz de aparearse con el codón de terminación AUG de ciertos ARNm. El ARNt de selenocisteína (ARNt_{sc}) es reconocido por la *seril-ARNt sintetasa* dando lugar a la formación de seril-ARNt_{sc}, compuesto que por modificación enzimática se transforma en selenocisteinil-ARNt_{sc}. Este aminoacil-ARNt es capaz de entrar en el sitio A del ribosoma y aparearse con el triplete AUG solamente en presencia de un factor extrarribosomal

específico que requiere GTP, cuando en la zona 3' contigua al triplete de terminación existe una secuencia específica, incorporándose el residuo selenocisteínilo a la cadena polipeptídica creciente.

En determinadas moléculas de ARNm y como consecuencia de la existencia de estructuras secundarias concretas en el entorno de un triplete de terminación, éste puede ser ignorado debido a un corrimiento en la pauta de lectura en el entorno de dicho triplete, lo que da lugar a un desplazamiento de un nucleótido de dicha pauta (*frameshifting*) y a la extensión de la cadena polipeptídica más allá del punto teórico de terminación. Este fenómeno ha sido observado en retrovirus y en determinados ARNm de mamíferos, como el de la *antizima*, proteína inhibidora de la *ornitina descarboxilasa*, enzima limitante de la síntesis de las poliaminas. Niveles elevados de estos policationes ejercen un control negativo de la enzima, pero no a través de un mecanismo de retroinhibición, sino estimulando la traducción de la *antizima*, por medio de un proceso de *frameshifting* de la lectura de su ARNm.

la primera base del extremo 5' y el triplete de iniciación existe una secuencia más o menos larga denominada secuencia líder, que no se traduce, por lo que es también conocida como secuencia 5' no traducida (5'UTR), pero que es importante para que el ARNm interaccione con la maquinaria de síntesis de las proteínas. De igual manera, entre el triplete de terminación y la última base del extremo 3' existe otra secuencia no traducida (3'UTR), y en el caso de los mensajeros eucarióticos esta secuencia 3' terminal se prolonga con la denominada *cola de poli (A)n* (donde *n* puede ser superior a 200), que tiene gran importancia en cuanto a la estabilidad metabólica del ARNm.

El código genético es *universal*, es decir, funciona por igual en todos los sistemas biológicos, de modo que es el mismo para los virus, las bacterias y las células eucarióticas. Sin embargo, se ha constatado la existencia de algunas excepciones, referentes al uso de unos pocos codones, en mitocondrias, cloroplastos y en ciertos protozoos (Recuadro 21-1).

21.3 PROCESO DE BIOSÍNTESIS DE LAS PROTEÍNAS EN LOS PROCARIOTAS

El proceso de biosíntesis de las proteínas requiere la presencia de los 20 aminoácidos proteicos y un aporte de energía, ya que la formación de los enlaces peptídicos entre los diferentes aminoácidos es un proceso *endergónico*. Los aminoácidos que van a reaccionar para formar la secuencia polipeptídica no lo hacen directamente, sino bajo la forma de especies activadas de mayor reactividad, formadas con la participación de la hidrólisis de moléculas de ATP. Además, el proceso de formación de los enlaces peptídicos requiere la participación de los *ribosomas*, que van a catalizar la formación de las uniones entre aminoácidos, con el concurso de otras proteínas extrarribosomales, y del ARNm, que va a determinar el orden en que los diferentes aminoácidos activados van a ir reaccionando de manera secuencial para formar una determinada cadena polipeptídica. La maquinaria biosintética es pues compleja, necesitando el concurso de

aminoácidos, ribosomas, ARNm, ARNt, ATP, GTP, iones magnesio, factores proteicos no ribosomales y enzimas no ribosomales.

21.3.1 Formación de los aminoacil-ARNt

Los 20 aminoácidos proteicos participan en la síntesis de las proteínas bajo la forma de aminoacil-ARNt, es decir, en forma de complejos binarios en los que la molécula de aminoácido se encuentra unida de forma covalente a un tipo de ARN de pequeño tamaño denominado *ARN de transferencia* (ARNt). Las moléculas de ARNt están formadas por una sola hebra de ARN de alrededor de 80 nucleótidos de longitud y de secuencia característica. Esta secuencia permite predecir apareamientos intracatenarios mediante enlaces por puentes de hidrógeno, que originan una estructura secundaria formada por una sucesión de brazos (zonas bicatenarias) y asas o bucles (zonas monocatenarias), que se denominan de manera concreta en función de ciertas características comunes a todos los tipos de ARNt (Fig. 21-3a). En algunos casos, se conoce la estructura terciaria de estas moléculas, que se asemeja en la forma a una L, y en cuya formación y estabilización participan diferentes enlaces por puentes de hidrógeno entre distintas partes de la cadena polinucleotídica (Fig. 21-3b).

Las moléculas de ARNt desempeñan funciones de *moléculas adaptadoras*, ya que, por una parte, debido a su carácter polinucleotídico y con bases sin aparear, pueden llevar a cabo interacciones específicas mediante enlaces por puentes de hidrógeno con las bases del ARNm, y por otra, reaccionan de forma covalente, mediante reacciones catalizadas por enzimas específicas, con aminoácidos, estableciendo la conexión entre las unidades del código de los ácidos nucleicos y de las proteínas. Cada molécula de ARNt une enzimáticamente a su extremo 3' terminal (que en todos los ARNt es -CCA) un determinado aminoácido. Esta molécula de ARNt posee en su asa intermedia, o asa *anticodón*, una secuencia de tres bases complementarias (de acuerdo con el apareamiento de Watson y Crick) del codón codificador del aminoácido.

La *interacción codón-anticodón* se produce por apareamiento antiparalelo, mediante la formación de enlaces por puentes de hidrógeno entre las cadenas de ARNm y de ARNt, con la ayuda de factores de traducción (Fig. 21-4a). No existen, sin embargo, 61 moléculas de ARNt distintas, que aportarían los 61 anticodones para el apareamiento estricto con los 61 codones diferentes, ya que un determinado anticodón puede interaccionar con más de un codón diferente (que se diferencian en la tercera base) mediante la formación de enlaces heterodoxos entre la primera base del anticodón y la tercera del codón (*balanceo*) (Fig. 21-4b). A pesar de ello, la mayor parte de los aminoácidos suele unirse

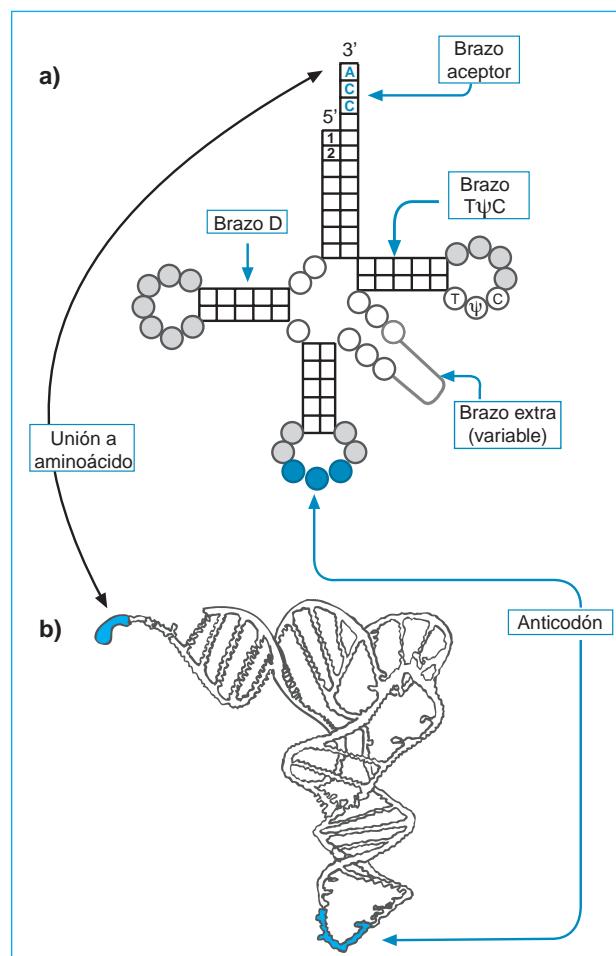


Figura 21-3. Estructura del ARNt. a) Estructura en hoja de trébol del ARNt. b) Estructura terciaria del ARNt.

a dos o tres ARNt diferentes, pero específicos de ese aminoácido, denominados *ARNt isoaceptores*.

Existen 20 enzimas diferentes que se encargan de unir de manera específica cada aminoácido con su(s) ARNt correspondiente(s) y que se denominan *aminoacil-ARNt sintetasas*. Una *aminoacil-ARNt sintetasa* determinada reconoce un solo aminoácido proteico (AAx) y su ARNt, o sus ARNt isoaceptores (ARNtx), emparejándolos por medio de la formación de un enlace covalente entre el grupo carboxilo del aminoácido y el hidroxilo 3' del residuo adenílico terminal del ARNt, lo que da lugar a la formación del aminoacil-ARNt [(AA-ARNt)x]. La reacción consta de dos etapas y consume el equivalente a dos enlaces ricos en energía, aportados por el ATP (Fig. 21-5). Las *aminoacil-ARNt sintetasas* poseen capacidad *autocorrectora* o de lectura de pruebas, rompiendo el enlace formado si la relación aminoácido-ARNt no es la correcta.

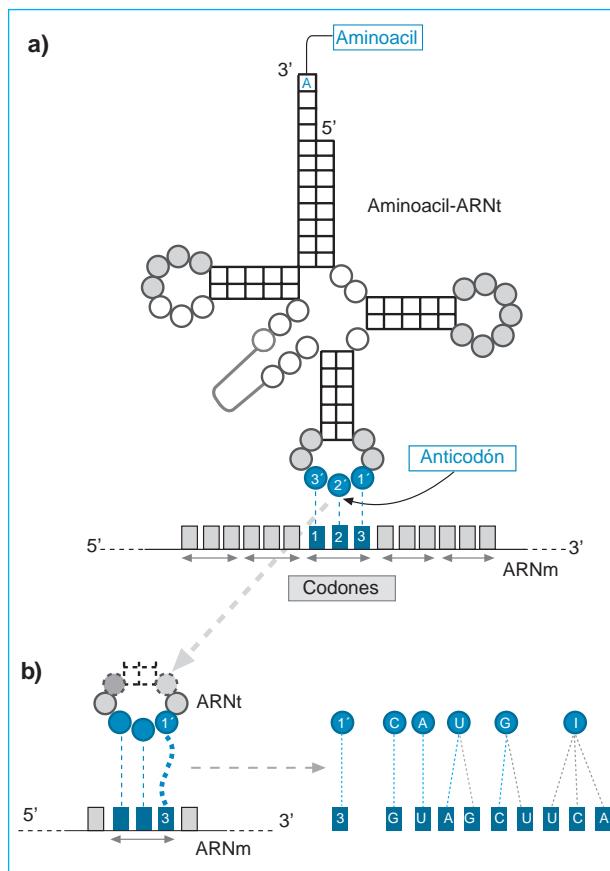


Figura 21-4. Apareamiento codón-anticodón. a) Interacción entre el ARNm y el ARNt (nótese el alineamiento antiparalelo de las cadenas). b) Balanceo entre codón-anticodón: posibilidades de apareamiento.

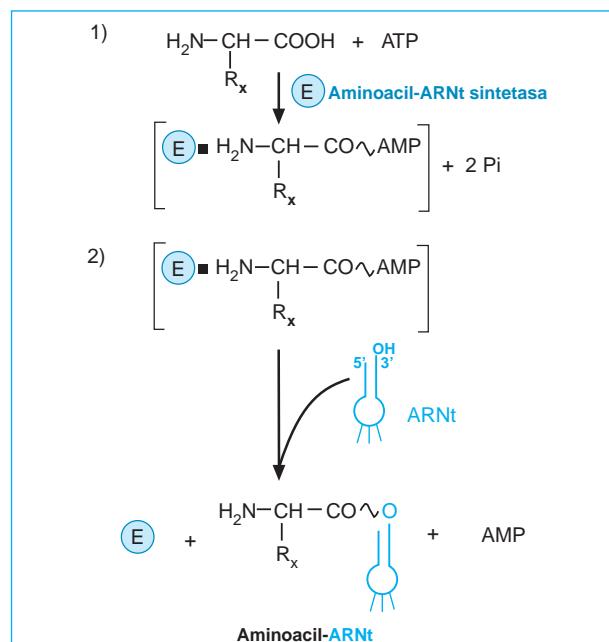
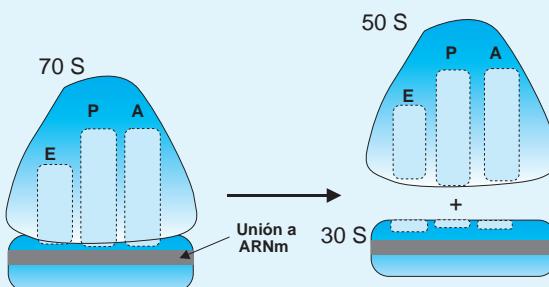


Figura 21-5. Reacciones de formación de los aminoacil-ARNt.

21.3.2 Síntesis de las proteínas en los ribosomas

Los ribosomas desempeñan un papel fundamental en el proceso de unión de los aminoácidos para formar la cadena polipeptídica. Estas partículas están formadas por la interacción compleja de diferentes cadenas de ARNr y proteínas ribosómicas, cuya composición más detallada se especifica en la Tabla 21-2. Los ribosomas están formados por dos subunidades:

Tabla 21-2. Composición de los ribosomas procarióticos



Subunidad 50 S

Subunidad 30 S

Subunidad 50 S	Subunidad 30 S
ARNr ARNr 23 S (2904 nucleótidos) ARNr 5 S (120 nucleótidos)	Proteínas ribosomales L 31 proteínas diferentes (L1, L2, ..., L31)

dades funcionales de tamaño diferente (L, o mayor, y S, o menor), que se asocian y disocian a lo largo del proceso biosintético. Aparte de los ribosomas, también participa en el proceso una serie de factores proteicos de traducción, que interaccionan con moléculas de aminoacil-ARNt, con los ribosomas y con el ARNm para llevar a cabo con precisión el proceso de traducción.

El proceso biosintético se puede dividir en tres etapas: *iniciación, elongación y terminación*. En la Figura 21-6 se representa un esquema del proceso de síntesis de las proteínas en los procariotas. En la etapa de iniciación y mediante una serie de pasos sucesivos, en los que se necesita el concurso de tres *factores de iniciación* diferentes (FI) y GTP, el ribosoma se ensambla alrededor de la zona 5' del ARNm, que contiene el triplete de iniciación AUG, con la unión del primer aminoacil-ARNt al *sitio P* (peptidilo) del ribosoma y formación del primer apareamiento codón-anticodón. En los ARNm de los procariotas existe en la región 5'UTR, y precediendo unos nucleótidos al triplete de iniciación, la secuencia AGGAGGU, denominada *secuencia de Shine-Dalgarno*, que sirve como sitio inicial de anclaje del ARNm al ribosoma, a través de su interacción con parte del extremo 3' de la molécula de ARNr 16S. En los ARN policistrónicos existe una secuencia de Shine-Dalgarno por cada cistrón.

El triplete de iniciación AUG codifica metionina, por lo que es este aminoácido, unido a un ARNt específico denominado *ARNt iniciador* (ARNtMet_f o ARNtMet_i) el primero que se incorpora al complejo de iniciación por medio del factor de iniciación 2 (FI-2). La entrada del segundo aminoacil-ARNt al *sitio A* (aminoacilo) del ribosoma viene dictada por el codón adyacente hacia el extremo 3' del codón de iniciación, requiriendo la actuación del *factor de elongación T* y de GTP. Cuando las dos moléculas de aminoacil-ARNt se encuentran localizadas sobre el ribosoma, se produce la formación del enlace peptídico entre los dos aminoácidos, reacción catalizada por la actividad *peptidiltransferasa* existente en la propia subunidad mayor del ribosoma, mediante el ataque del grupo amino del segundo aminoacil-ARNt al enlace éster, rico en energía, del primer aminoacil-ARNt, con la formación de un dipeptidil-ARNt unido al sitio A del ribosoma, y un ARNt_i descargado unido al sitio P.

La actividad *peptidiltransferasa* reside en la molécula de ARNr 23S, que se comporta como una ribozima. Con el concurso del *factor de elongación G* y del GTP se produce la *translocación* o avance del ribosoma sobre el ARNm, quedando el ARNt descargado sobre el *sitio E* (de salida), el peptidil-ARNt sobre el sitio P y el sitio A vacío, lo que posibilita la entrada de una nueva molécula de aminoacil-ARNt y la formación secuencial de un nuevo enlace con el consiguiente crecimiento de la cadena polipeptídica naciente en una unidad (Fig. 21-6a).

El ciclo de elongación se repite de forma continua, deslizándose gradualmente el ribosoma sobre el ARNm en el sentido 5' → 3', hasta llegar a encontrar un *triplete de terminación*. Ello permite la interacción del complejo con alguno de los *factores proteicos de terminación* (RF), que unen al sitio A gracias a su parecido estructural con los ARNt, y la molécula de agua asociada hidroliza el peptidil-ARNt, facilitando la liberación de la cadena polipeptídica sintetizada y la disociación del complejo biosintético tras la actuación del FI-3 (Fig. 21-6b).

Durante este proceso se hidrolizan al menos dos moléculas de GTP por cada enlace sintetizado. Este gasto energético unido a los dos enlaces ricos en energía que se consumen en la activación de cada molécula de aminoacil-ARNt suponen un costo energético de al menos 4 enlaces ricos en energía por aminoácido de la cadena sintetizada, energía que es unas 5 veces superior a la energía de hidrólisis de un enlace peptídico. La cadena polipeptídica crece en el sentido que va desde el extremo amino al extremo carboxilo terminal, a una velocidad aproximada de 20 aminoácidos por segundo. Además, una molécula de ARNm puede ser leída simultáneamente por varios ribosomas (*polirribosomas o polisomas*), lo que favorece la eficacia del proceso de traducción (Fig. 21-7).

21.4 BIOSÍNTESIS DE LAS PROTEÍNAS EN LOS EUCA RIOTAS

En las células eucarióticas existen diversos sistemas de traducción que operan en compartimentos celulares diferentes: citosol, mitocondria y cloroplastos. El sistema de traducción más importante es el que opera en el citosol, que está formado por los ribosomas citosólicos y por una maquinaria de traducción similares a las descritas en las bacterias, aunque con diferencias en lo que se refiere a determinadas características de los ribosomas, factores proteicos de traducción y ARNm (Fig. 21-8 y Tabla 21-3). Los sistemas de traducción mitocondrial y cloroplástico son más parecidos al bacteriano que al propio citosólico. En las células de mamíferos, aparte de los ribosomas libres existentes en el citosol y de los de menor tamaño presentes en las mitocondrias, se pueden observar ribosomas ligados al retículo endoplásmico, formando el *retículo endoplásmico rugoso*.

Estos ribosomas no son diferentes a los citosólicos y se encuentran interaccionando con la membrana del retículo, no por causa de alguna diferencia intrínseca, sino en función de la proteína que están sintetizando, ya que determinadas proteínas, al sintetizarse, poseen una secuencia específica en la región amino terminal (secuencia señal) que hace que la proteína naciente interaccione de manera indirecta con la membrana del retículo endoplásmico, por medio de una partícula de reconocimiento de la señal (PRS) (véase el Cap. 26).

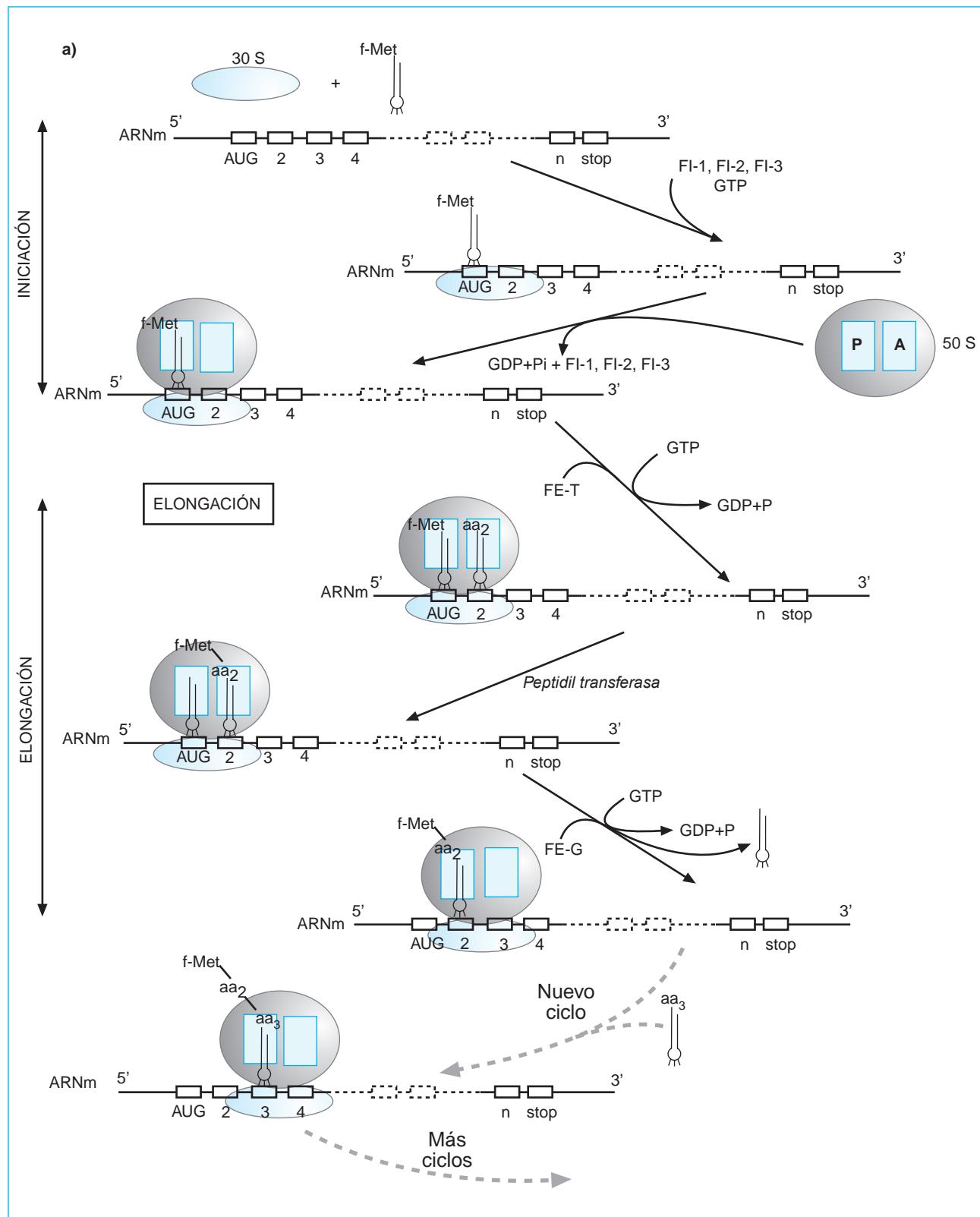


Figura 21-6. a) Etapas de iniciación y elongación de la síntesis de las proteínas en los procariotas. b) Terminación de la traducción en los procariotas.

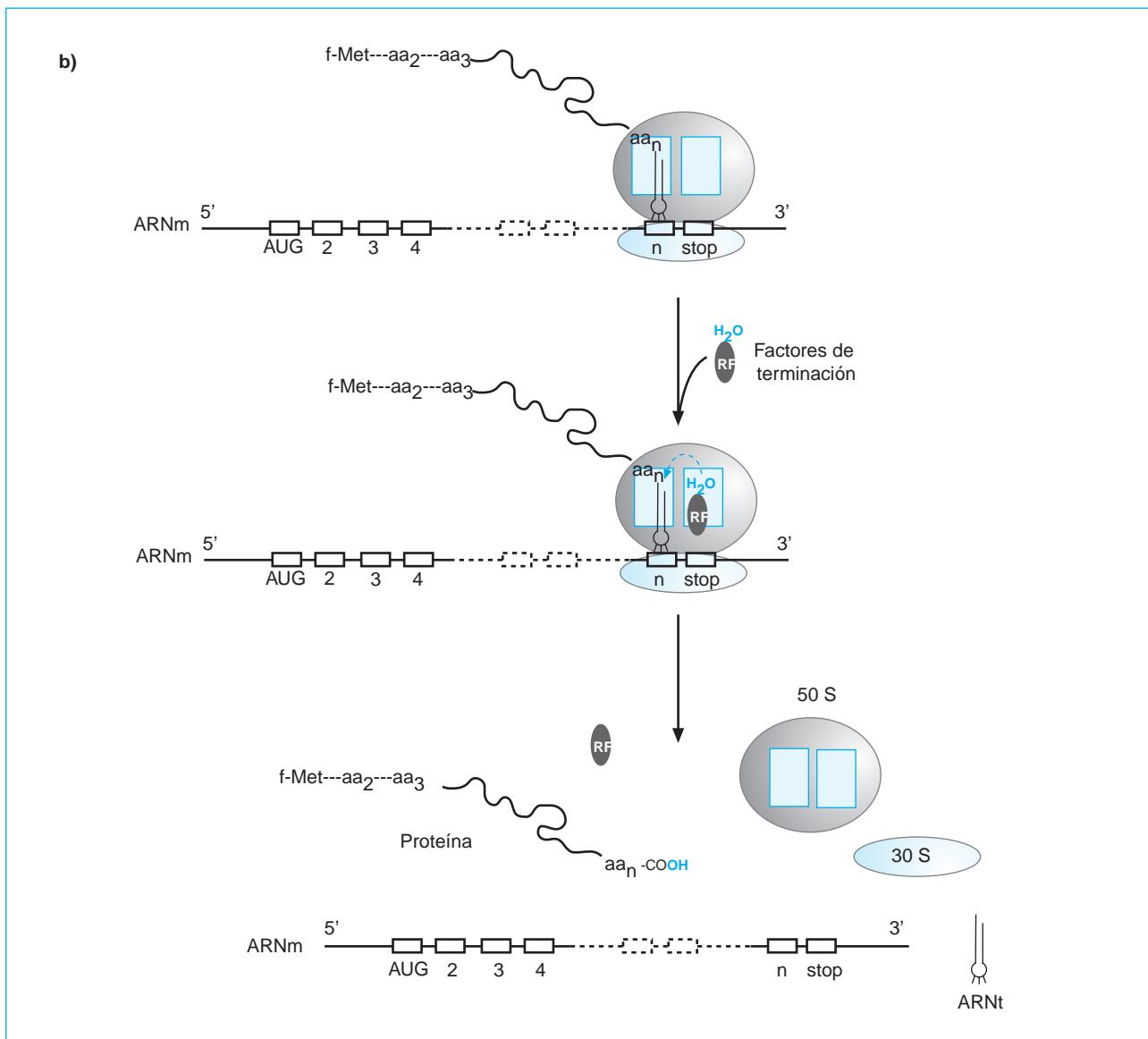


Figura 21-6. (Continuación).

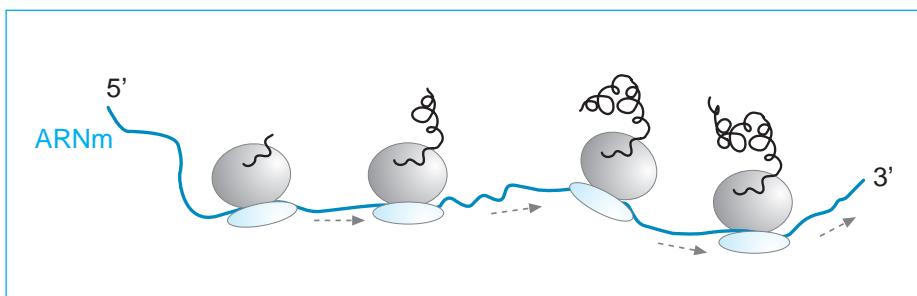


Figura 21-7. Polirribosomas. El número de ribosomas por molécula de ARNm depende de la longitud del mismo. La cadena polipeptídica naciente tiene un tamaño mayor cuanto más próximo esté el ribosoma al extremo 3' del ARNm.

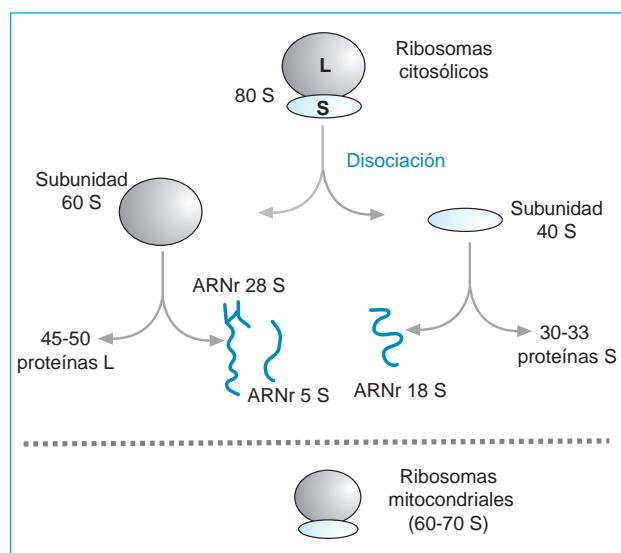


Figura 21-8. Componentes de los ribosomas eucarióticos. La cadena de ARNr 5.8 S está apareada con el ARNr mayor para dar la molécula de ARNr 28 S.

Una de las diferencias más claras entre la traducción en los procariotas y en el citosol de los eucariotas se encuentra en el proceso de iniciación, que es más complejo en los eucariotas, ya que participa un mayor número de factores de iniciación y con un mecanismo de unión del ribosoma con el ARNm ligeramente diferente. Aquí, la interacción de la subunidad menor del ribosoma 40S y el metionil-ARNt_i no se produce directamente con el primer triplete de iniciación próximo al extremo 5' del ARNm, sino que se unen primero a la caperuza por medio de un factor de iniciación específico (eFI-4E o CBP), y

el complejo ternario formado con la ayuda de otros factores de iniciación realiza un desplazamiento o barrido variable sobre el extremo 5' hasta encontrar el triplete AUG, que suele estar formando parte de la secuencia GCCA/GCCAUGG o *secuencia de Kozak*, para formar el complejo de iniciación 80S tras unir a la subunidad mayor 60S (Fig. 21-9).

Mientras que en los procariotas, el ribosoma puede unirse al extremo 5' del ARNm aunque no esté íntegro el extremo 3' (como ocurre durante el acoplamiento transcripción-traducción), en los eucariotas, la unión del ribosoma al extremo 5' requiere la existencia de un extremo 3' funcional, ya que debe producirse una interacción entre ambos extremos del ARNm a través de factores proteicos extrarribosomales para un inicio y una traducción eficiente (Fig. 21-10). Una vez formado el complejo de iniciación, la elongación requiere de *factores eucarióticos de elongación* (eFE-1 α y eFE-1 $\beta\gamma$, equivalentes al FE-T procariótico, y eFE-2, equivalente al FE-G) que actúan de manera similar a los procariotas, mientras que en la terminación, a diferencia de los procariotas, participa un único factor de terminación (eRF) que reconoce a los tres tripletes de terminación. La cadena polipeptídica recién liberada del ribosoma no suele ser funcional y requiere de procesos de plegamiento y procesamiento postraduccional que se estudian con más detalle en el Capítulo 26.

En algunos ARNm eucariotas el proceso de iniciación es diferente al descrito anteriormente, ya que no se produce la interacción del ribosoma con la caperuza y el barrido de la zona 5'UTR hasta encontrar el triplete de iniciación. En estos casos existen *secuencias internas de entrada del ribosoma* (IRES) alejadas del extremo 5', a las que se asocia el ribosoma con el concurso de determinados factores de iniciación, para iniciar la traducción en ese punto.

Tabla 21-3. Sistemas de síntesis de las proteínas en los procariotas y eucariotas

	Procariotas	Eucariotas
Ribosomas	70 S (50 S+30 S)	80 S (60 S+40 S)
ARNm	Policistrónicos	Monocistrónicos Caperuza y cola de poli(A)
ARNt iniciador	ARNt _i -formilMet	ARNt _i -Met
Factores de iniciación	FI-1, FI-2, FI-3	eFI-2, eFI-2B, eFI-3, eFI-4A, eFI-4B, eFI-4C, eFI-4E, eFI-4G, eFI-5, eFI-6
Factores de elongación	FE-T (Ts y Tu), FE-G	eFE-1 α , eFI-1 $\beta\gamma$, eFI-2
Factores de terminación	RF-1, RF-2, RF-3	eRF
Inhibidores	Puromicina, eritromicina, estreptomicina, cloranfenicol, gentamicina, kanamicina, neomicina, etcétera	Puromicina, cicloheximida, pactamicina, abrina, ricina, toxina diftérica, etcétera

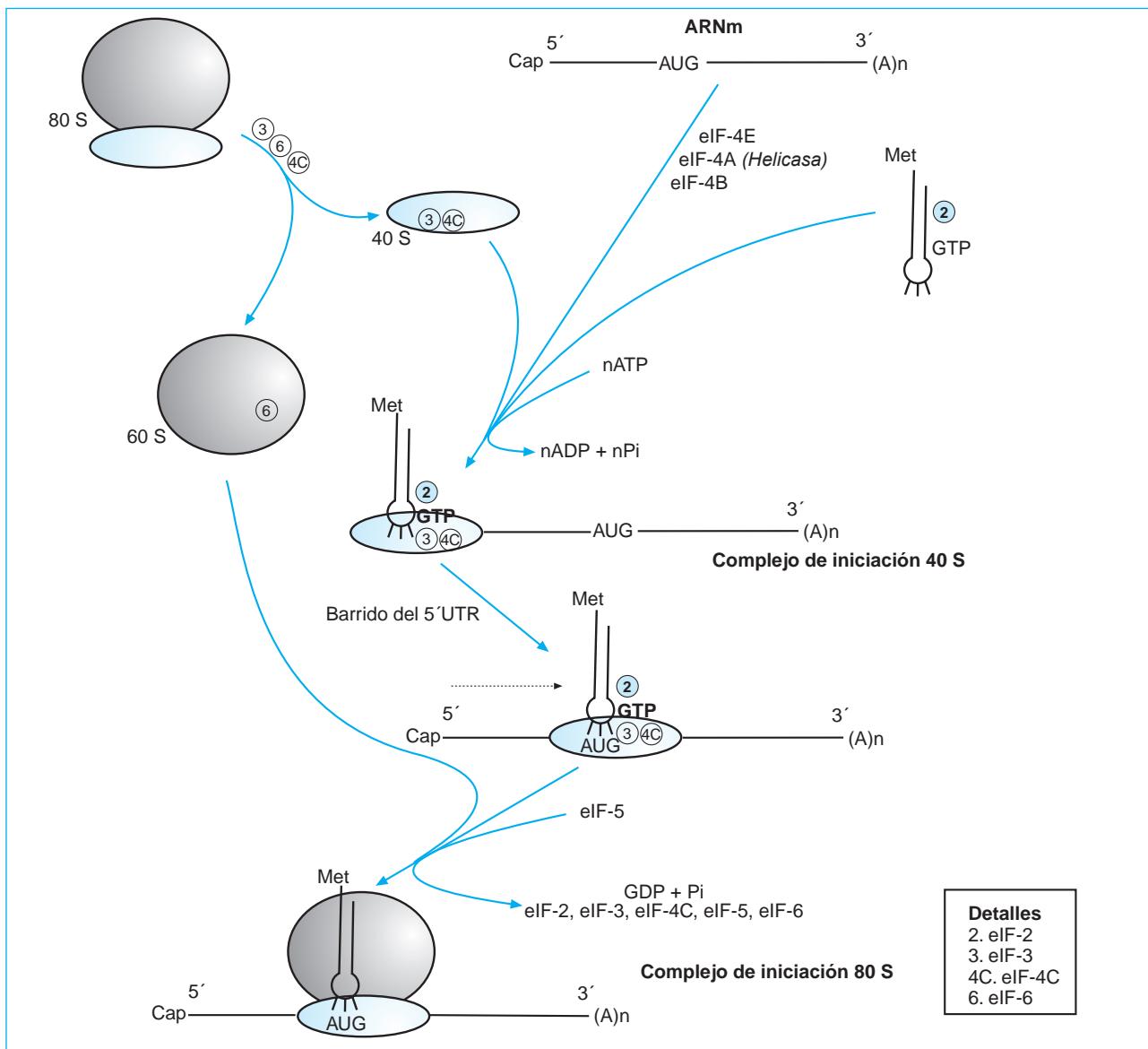


Figura 21-9. Iniciación de la traducción en los ribosomas citosólicos 80 S.

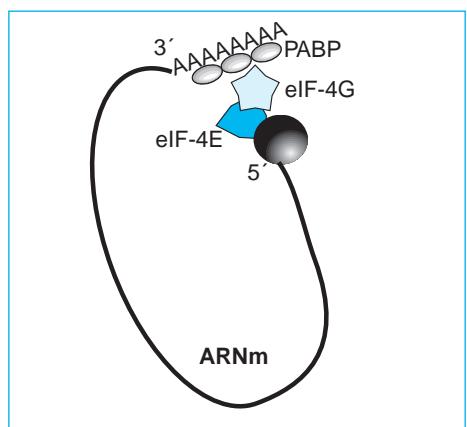


Figura 21-10. Esquema de la posible interacción entre la caperuza y la cola de poli(A) de los ARNm traducidos (PABP: proteína de unión a la cola de poli(A)).

21.5 INHIBIDORES DE LA SÍNTESIS DE LAS PROTEÍNAS

Habida cuenta de la complejidad y variabilidad estructural de los diferentes componentes que participan en el proceso de síntesis proteica, no es de extrañar que existan muchos compuestos diferentes que inhiban el proceso de traducción. Muchos de ellos inhiben etapas concretas del proceso, tales como la formación de algún aminoacil-ARNt, la iniciación o la elongación, no conociéndose, sin embargo, inhibidores de la terminación. Algunos inhibidores, como la *estreptomicina*, aumentan la tasa de errores del proceso de descodificación, dando lugar a proteínas anormales no funcionales, mientras que otros, como la *puromicina*, abortan el proceso de síntesis e inducen la formación de cadenas polipeptídicas incompletas.

Las diferencias entre los sistemas de síntesis de las proteínas en las bacterias y los organismos eucarióticos quedan claramente marcadas en lo que respecta a su sensibilidad frente a los inhibidores del proceso de síntesis de las proteínas: así, mientras que algunos de ellos inhiben la traducción, tanto en los procariotas, como en los eucariotas (caso de la puromicina), otros muestran una gran especificidad para cada uno de estos sistemas. Sustancias como el *cloranfenicol*, la *eritromicina*, la *estreptomicina*, etcétera, son inhibidores del proceso en los procariotas, pero no producen efectos inhibitorios en los ribosomas citosólicos 80 S de los eucariotas, mientras que inhibidores en los eucariotas, como la *cicloheximida*, no tienen efecto sobre los ribosomas bacterianos.

Los inhibidores de la síntesis de las proteínas en las bacterias pueden, en teoría, ser utilizados como fármacos antibacterianos. Sin embargo, no hay que olvidar que en las células animales, aparte del sistema de biosíntesis de las proteínas existentes en el citosol, hay otro sistema operante en el interior de la mitocondria, que se asemeja más en sus propiedades al bacteriano que al del propio citosol eucariótico, por lo que determinados inhibidores, como el cloranfenicol, pueden tener efectos indeseables sobre la función mitocondrial. Por otra parte, se conoce que la inhibición de la síntesis de proteínas puede ser la causa de la acción de diferentes agentes patógenos sobre las células humanas, como es el caso de la *toxina diftérica*, que produce la inactivación del eEF-2 por medio de una modificación covalente del mismo (ADP-ribosilación) y la paralización de la síntesis proteica.

21.6 REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS PROTEICA

La síntesis de las proteínas se regula, tanto en las células procariotas, como en las eucariotas, a través de diferentes mecanismos entre los que se puede destacar la regulación de los niveles de ARNm (*control pretraduccional*) y el control de la

eficacia de lectura de un determinado ARNm (*control traduccional*). Aparte de estos procesos generales, la traducción en células eucarióticas de determinados tipos de ARNm presenta mecanismos específicos de control, como la compartimentación citoplasmática de determinados tipos de ARNm o el silenciamiento de la expresión de determinados genes, por degradación de sus ARNm específicos mediante interacción con moléculas pequeñas de ARN (ARNsi o ARN pequeño de interferencia) (véase el Cap. 22).

21.6.1 Regulación de los niveles de ARNm

La concentración de un determinado tipo de ARNm se relaciona con diferentes procesos: su velocidad de síntesis o procesamiento postranscripcional, su transporte al citosol en el caso de los ARNm eucarióticos y su estabilidad metabólica o vida media.

El ARNm eucariótica que madura en el núcleo es transportado a través de los poros nucleares hasta el citosol, donde se inicia su traducción por los ribosomas. En este proceso de transporte participan proteínas de transporte nucleares, como las *exportinas*, así como determinadas proteínas citosólicas, como la *proteína de unión a la caperuza* (o eIF-4G). Los niveles de ARNm alcanzados en el citosol dependen, pues del balance entre los procesos de suministro y de degradación.

La estabilidad de un determinado ARNm depende, tanto de su propia estructura como de la presencia de proteínas y factores que regulan su velocidad de degradación. Los ARNm bacterianos suelen ser muy inestables, con vidas medias de alrededor de 3 minutos, siendo degradados por exonucleasas que actúan en la dirección 3' → 5'. Los ARNm eucarióticos suelen ser más estables, alcanzando vidas medias de varias horas, aunque los que codifican para ciertas proteínas reguladoras tienen vidas medias inferiores a 30 minutos. Uno de los factores que regula la estabilidad del ARNm es la longitud de su cola de poli(A). En el citosol, la cola de poli(A) es degradada lentamente por la *exonucleasa DAN*, que va recortando la cola de poli(A) en la dirección 3' → 5'. Cuando la longitud de la cola de poli(A) desciende por debajo de 30 nucleótidos se acelera la degradación, tanto del extremo 3', como del 5' mediante la eliminación de la caperuza por medio de la enzima *Dcp* y posterior degradación del extremo 5' (Fig. 21-11a).

El proceso degradativo puede verse afectado por la unión al segmento 3'UTR de proteínas específicas que disminuyen o aumentan la velocidad de degradación de la cola de poli(A). Igualmente, la presencia de factores proteicos de traducción asociados al ARNm disminuye su degradación, por lo que la degradación de un ARNm se correlaciona inversamente con su tasa de traducción. Para algunos ARNm existe una variante del proceso de degradación mediado por la

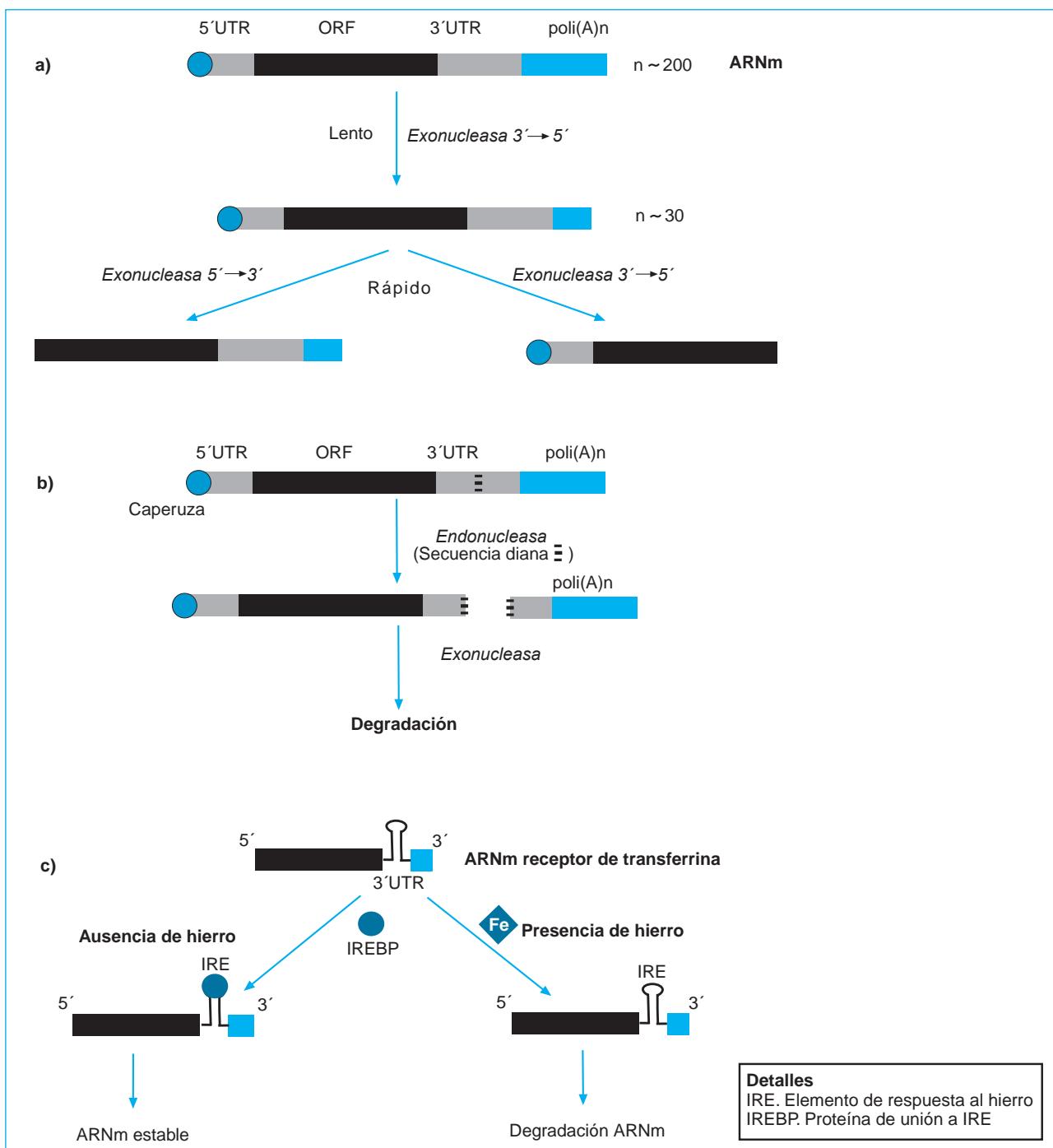


Figura 21-11. Estabilidad de las moléculas de ARNm eucarióticos. a) Degradación de la cola de poli(A). b) Ataque a la región 3'UTR. c) Influencia de la unión de proteínas a elementos estructurales de la zona 3'UTR, en la degradación de ARNm específicos.

existencia de secuencias nucleotídicas específicas en la región 3'UTR que son reconocidas por endonucleasas, que cortan la molécula de ARNm desproveyéndola de la cola de poli(A), lo que acelera su degradación por exonucleasas (Fig. 21-11b).

Un ejemplo interesante del control de la síntesis de una proteína a través del control de la estabilidad de su ARNm es el del receptor de la transferrina, proteína de membrana necesaria para la captación del hierro por la célula. Este mensajero posee en su región 3'UTR secuencias específicas que, por

apareamiento complementario parcial, forman horquillas específicas denominadas IRE (*elementos de respuesta a hierro*). En ausencia de hierro, estas estructuras son reconocidas por una proteína específica, IREBP (*proteína de unión a IRE*) que se une a ellas y disminuye la degradación del ARNm. En presencia de hierro, éste se une a la proteína, evitando que ésta se una al ARNm y, por tanto, favoreciendo la degradación del ARNm y disminuyendo la síntesis del receptor de transferrina (Fig. 21-11c).

21.6.2 Control traduccional

El control traduccional viene mediado fundamentalmente por la eficacia del proceso de iniciación. Éste, a su vez, depende de la disponibilidad de los factores de iniciación y la actividad de los mismos como de la estructura del ARNm, en especial de la zona 5'UTR.

En las bacterias existe un control traduccional negativo mediado por proteínas que, al unirse a la secuencia de Shine-Dalgarno, disminuyen la unión del ribosoma al ARNm. Algunos ARNm bacterianos tienen represores específicos, como en el caso de los ARNm de las proteínas ribosomales, en las que la unión de algunas de éstas al ARNm policistrónico disminuye la traducción del mismo (véase el Cap. 22).

En los ARNm eucarióticos, la estructura de la región 5'UTR puede afectar la eficacia del proceso de iniciación, así como la unión de proteínas que pueden actuar como represores traducionales. Así, en el caso del ARNm de la ferriti-

na (proteína almacenadora de hierro), en ausencia de hierro, la proteína IREBP se une a un elemento IRE existente en la región 5'UTR, impidiendo la traducción del mensajero. En presencia de hierro la afinidad de la proteína por el IRE disminuye en gran medida, quedando el IRE libre y desapareciendo el bloqueo de la traducción del mensajero y el aumento de la síntesis de ferritina (Fig. 21-12).

La cantidad y actividad de los diferentes factores de iniciación y elongación también afecta la síntesis de las proteínas, aunque no afecta por igual a todos los tipos de ARNm. Se conocen diferentes ejemplos en los que la disponibilidad de factores proteicos afecta al proceso de síntesis proteica. Así, el interferón estimula la fosforilación del eFI-2, lo que hace disminuir, en su conjunto, la síntesis proteica (véase el Cap. 28). Durante la mitosis se produce un descenso en la síntesis de las proteínas, que está relacionada con un descenso en los niveles del eFI-4E. En las células que sufren apoptosis se produce la disminución de la síntesis de un gran número de proteínas por disminuir los niveles del eFI-4G, mientras que no se afecta la síntesis de aquéllas codificadas por mensajeros que poseen secuencias internas de entrada de ribosomas.

En los reticulocitos, donde tiene lugar la síntesis de la globina, se produce la inactivación del eFI-2 por fosforilación, por medio de una proteína quinasa controlada por hemo. La presencia de hemo inhibe la fosforilación, por lo que los niveles de síntesis de las globinas van asociados a la disponibilidad del hemo necesario para la formación de hemoglobina.

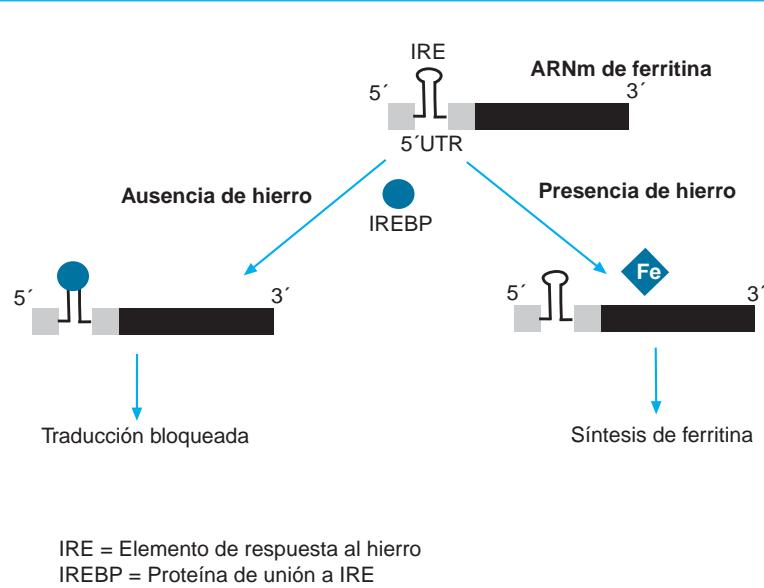


Figura 21-12. Control traduccional, mediado por hierro, de la síntesis de ferritina.

21.7 MODIFICACIONES POSTRADUCCIONALES

La cadena polipeptídica resultante del proceso biosintético en los ribosomas da lugar a su correspondiente proteína nativa, tras una serie de modificaciones (*modificaciones posttraduccionales*) que incluyen la eliminación de residuos terminales o internos, modificaciones químicas de las cadenas laterales de determinados aminoácidos y el plegamiento de la cadena para formar las estructuras secundaria y terciaria apropiadas. A veces, las modificaciones son *cotraduccionales*, es decir, se producen a medida que la cadena se va sintetizando. En cualquier caso, estas modificaciones están relacionadas con la actividad y la funcionalidad de la proteína. En la Tabla 21-4 se muestran algunas de las modificaciones más habituales. En cada una de ellas se modifica un determinado aminoácido, o secuencia de la cadena polipeptídica, por medio de enzimas de modificación específicas.

Cada una de las modificaciones desempeña un papel concreto en el funcionamiento de una proteína: así, la proteólisis parcial y la formación de puentes disulfuro son procesos importantísimos para la adquisición de la estructura tridimensional activa, la fosforilación-desfosforilación afecta considerablemente a la actividad de un buen número de enzimas, mientras que la glicosilación hace cambiar las propiedades de otras muchas. Determinadas proteínas periféricas de membrana interaccionan con la bicapa lipídica por medio de enlaces iónicos entre residuos aminoacídicos cargados y la cabeza polar de los fosfolípidos. En otros casos, las proteínas se unen de forma covalente al fosfolípido de la membrana, por medio de su aminoácido C-terminal, o bien se anclan a la membrana por medio de cadenas de ácido graso (palmítico, mirístico) o mediante grupos isoprenoides (geranilo, farnesilo) unidos a una cisteína C-terminal (prenilación). En el Recuadro 21-2 se comentan las transformaciones desde preproinsulina a proinsulina e insulina.

Tabla 21-4. Modificaciones posttraduccionales de las proteínas

• Desformilación de formilmetionina y eliminación de la metionina amino terminal	
• Proteólisis parcial de las cadenas polipeptídicas	
• Modificaciones de las cadenas laterales de los aminoácidos	Aminoácidos implicados
<ul style="list-style-type: none"> – Formación de puentes disulfuro – Hidroxilación – Entrecruzamientos – Carboxilación – Fosforilación – Metilación – Acetilación – Sulfatación 	<ul style="list-style-type: none"> – Cys – Pro, Lys – Lys, OH-Lys, Gln – Glu – Ser, Thr, Tyr – Ala, Arg, Met, Pro – Lys – Tyr
<ul style="list-style-type: none"> • Adición de grupos voluminosos a residuos específicos <ul style="list-style-type: none"> – Hidratos de carbono: glicosilación con monosacáridos y oligosacáridos de Asn, Thr, Ser, OH-Lys – Lípidos: <ul style="list-style-type: none"> • Ácidos grasos (mirístico, palmítico, etc.) • Fosfolípidos (fosfatidilinositol) • Isoprenoides (farnesilo, geranilo, etc.) – Otros: <ul style="list-style-type: none"> • ADP-ribosilación • Ubiquitinación 	

Recuadro 21-2.**BIOSÍNTESIS DE LA INSULINA**

La insulina es sintetizada y secretada por las células β de los islotes de Langerhans del páncreas endocrino. En dichas células, a partir del ARNm de insulina se inicia la síntesis de un precursor inactivo, la *preproinsulina*. La presencia de una secuencia señal en el extremo amino terminal de la cadena polipeptídica en la vía de síntesis, encamina al precursor hacia el retículo endoplásmico, en donde se forma el verdadero precursor, la *proinsulina*, tras la eliminación del péptido señal de la cadena de preproinsulina. La proinsulina se transforma en insulina mediante proteólisis limitada en el retículo endoplásmico y en el aparato de Golgi, siendo en este compartimento donde la hormona activa va acumulándose en vesículas o gránulos de secreción, los cuales se liberan al exterior cuando la célula recibe los estímulos adecuados, especialmente en respuesta a concentraciones elevadas de glucosa en la sangre.

Durante la transformación de proinsulina a insulina, la cadena polipeptídica se fragmenta en tres péptidos A, B y C, quedando unidos los dos primeros por dos puentes disulfuro, constituyendo la *insulina*, y liberándose el tercero.

La secuencia de insulina presenta pocas variaciones entre especies de

mamíferos, estando muy conservadas las posiciones que incluyen los tres puentes disulfuros, ambos extremos de la cadena A y los residuos del extremo carboxilo de la cadena B. Esta analogía de secuencia determina que la estructura tridimensional de las diferentes insulinas animales sea muy parecida y que, por tanto, la insulina de un animal sea biológicamente activa en otras especies.

Las moléculas de insulina tienen tendencia a formar dímeros en disolución, a través de la formación de enlaces por puentes de hidrógeno entre los extremos carboxilos de las cadenas B. La presencia de cinc favorece la asociación de los dímeros en hexámeros.

Los monómeros y dímeros difunden bien por la sangre, mientras que los hexámeros dan problemas. Aunque la insulina de cerdo ha sido muy eficaz para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo I, las técnicas biotecnológicas a base de ADN recombinante han permitido obtener insulina recombinante humana. Esta tecnología posibilita además la obtención de análogos de insulina, como la insulina *lispro*, en la que la inversión de la secuencia prolina-lisina del extremo C-terminal de la cadena humana, no altera su capacidad para unirse a su receptor, pero hace que tenga menor tendencia a formar agregados.

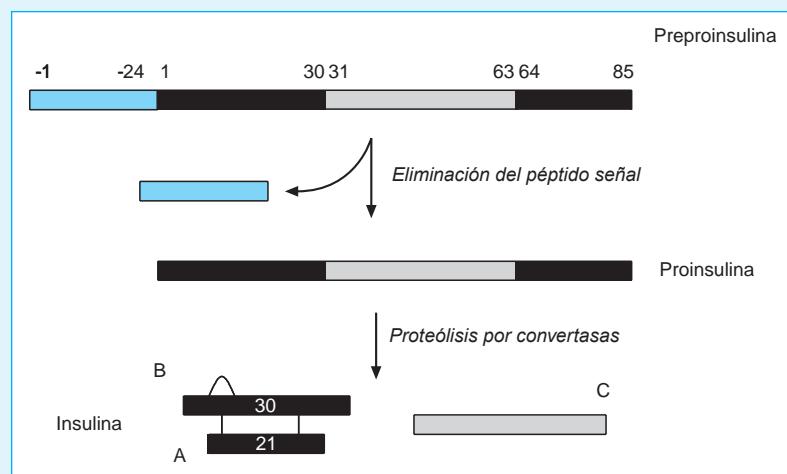


Figura 21-13. Secuencia en la síntesis de insulina.

RESUMEN

- La traducción es el proceso mediante el cual la información existente en las moléculas de ARNm queda plasmada en la síntesis de una cadena polipeptídica con una secuencia aminoacídica determinada, en función del ordenamiento de las bases en el mensajero.
- El código genético marca la relación existente entre las unidades de codificación del ARNm (tripletes de bases o codones) y cada uno de los 20 aminoácidos proteicos.
- De los 64 tripletes posibles, tres son tripletes de terminación (UAA, UAG, UGA), mientras que el resto codifica los diferentes aminoácidos, siendo el triplete AUG, codificador de metionina, un codón de iniciación.
- El código genético es degenerado (varios codones denominados sinónimos codifican un mismo aminoácido) y universal, leyéndose de forma no solapada (cada base de la secuencia codificante forma parte de un solo codón).
- En el proceso de descodificación del mensaje, las moléculas de ARNt participan como moléculas adaptadoras, uniéndose por su extremo 3' a un aminoácido concreto e interaccionando a través de una secuencia intermedia específica (anticodón) con las moléculas de ARNm.
- La síntesis de las proteínas tiene lugar en los ribosomas, participando aparte de estos orgánulos, moléculas de ARN (ARNm y ARNt), proteínas y enzimas extraribosomales, aminoácidos, ATP, GTP, fundamentalmente.
- Los ribosomas están formados por varias decenas de proteínas ribosómicas y tres moléculas de ARNr diferentes que, además de estructurar la partícula, desempeñan funciones importantes como la interacción con el ARNm y los ARNt y la actividad ribozima de la peptidil transferasa.
- Para su participación en la síntesis proteica, los aminoácidos necesitan ser activados mediante su unión a las correspondientes moléculas de ARNt con la intervención en dicho proceso de ATP, que aporta la energía necesaria para la obtención del aminoacil-ARNt y de una familia de enzimas, las aminoacil-ARNt sintetasas.
- El proceso de síntesis proteica es similar en los organismos procarióticos y eucarióticos, pudiendo dividirse en tres etapas fundamentales: iniciación, elongación y terminación.
- En el proceso de iniciación tienen lugar la interacción del ribosoma con el extremo 5' terminal del ARNm y la localización del metionil-ARNt iniciador sobre el triplete de iniciación AUG. En el caso de los ARNm procarióticos, la secuencia de Shine-Dalgarno existente en la región 5'UTR es fundamental para la interacción con el ribosoma. En la mayoría de los ARNm eucarióticos la caperuza del extremo 5' juega un papel importante en el proceso de iniciación, aunque en determinados casos existen secuencias internas de unión a ribosomas.
- Durante el proceso de elongación tiene lugar el crecimiento de la cadena polipeptídica desde el extremo amino hasta el carboxilo terminal, con la participación de los factores proteicos de elongación (FE-T y FE-G en los procariotas, y eFE-1 y eFE-2, en los eucariotas), y de la actividad *peptidil transferasa* responsable de la formación de los enlaces peptídicos que unen unos aminoácidos con otros a lo largo de la cadena.
- La finalización de la cadena ocurre cuando en la pauta de lectura aparece uno de los tripletes de terminación, lo que facilita la entrada de un factor de terminación (RF) al sitio A vacío del ribosoma y la hidrólisis del peptidil-ARNt del sitio P, con la subsiguiente liberación de la cadena polipeptídica del ribosoma.
- La traducción es un proceso endergónico, en el que se consumen al menos cuatro enlaces ricos en energía por cada aminoácido incorporado en la cadena polipeptídica.
- La cadena polipeptídica sintetizada en el ribosoma sufre una serie de modificaciones cotraduccionales y postraduccionales, que son de importancia fundamental para el funcionamiento de la proteína.
- La síntesis de las proteínas es un proceso regulado tanto a nivel pretraduccional (disponibilidad de ARNm), como traduccional (eficacia de la lectura).
- La concentración de un ARNm depende, tanto de la velocidad de su síntesis, como de su degradación, estando mediada esta última fundamentalmente por la longitud de la cola de poli(A) y por la unión de proteínas a la zona 3'UTR.
- El control traduccional viene mediado fundamentalmente por la eficacia del proceso de iniciación, la cual depende de la disponibilidad y actividad de los factores de iniciación y de la estructura de la zona 5'UTR del ARNm.
- En la mitocondria existe un sistema específico de síntesis proteica, que se asemeja más al sistema de los procariotas que al existente en el citosol de las células eucarióticas.
- Existen numerosos inhibidores del proceso de biosíntesis proteica que actúan bloqueando acontecimientos de las etapas de iniciación o elongación, presentando muchos de ellos especificidad de acción sobre los eucariotas o los procariotas, lo que permite la utilización de los últimos como fármacos antibacterianos.

EVALUACIÓN

1. (A). En relación a la pauta de lectura:
 - a. En el ARNm viene delimitada por las tres primeras bases del extremo 5'.
 - b. La zona 5'UTR forma parte de la misma.
 - c. Cada base de la misma forma parte de tres codones diferentes.
 - d. En la mitocondria viene definida por el codón de inicio de selenocisteína.
 - e. Todo lo anterior es falso.

2. (B). Estructura y función de los ribosomas:
 1. Se desplazan sobre la molécula de ARNm en la dirección 3'→5'.
 2. En la subunidad mayor, el ARNr actúa como ribozima.
 3. Un ribosoma no puede unirse al ARNm si sobre éste ya hay unido otro ribosoma.
 4. Los del citoplasma eucariótico son de mayor tamaño que los mitocondriales.

a b c d e

3. (A). Código genético:
 - a. Todos los aminoácidos tienen el mismo número de codones sinónimos.
 - b. En las mitocondrias sólo existen dos codones de terminación.
 - c. El codón interacciona formando enlaces por puentes de hidrógeno con el anticodón.
 - d. Los virus animales utilizan un código específico.
 - e. Hay más de una respuesta correcta.

4. (B). Activación de los aminoácidos:
 1. Se consumen dos enlaces ricos en energía por cada aminoacil-ARNt formado.
 2. Cada uno de los 20 aminoácidos proteicos es unido a su ARNt por una enzima específica.
 3. Las aminoacil-ARNt tienen actividad correctora.
 4. Se unen por su grupo amino al extremo 3' de la molécula de ARNt.

a b c d e

5. (B). Etapas de la biosíntesis proteica:
 1. En los procariotas, en la iniciación participan 3 factores proteicos diferentes.
 2. Durante la formación del enlace peptídico hay dos moléculas de ARNt unidas al ARNm.
 3. El FE-T es requerido para la incorporación del aminoacil-ARNt al sitio A del ribosoma.
 4. En los eucariotas, el primer aminoácido incorporado a la cadena es cisteína, en lugar de metionina.

a b c d e

6. (B). Interacciones moleculares durante la traducción:
 1. La subunidad 40S interacciona con la caperuza del ARNm y se desplaza por el 5'UTR hasta encontrar el triplete AUG de iniciación.
 2. Los factores de terminación impiden el avance del ribosoma sobre el ARNm.
 3. Entre la tercera base del codón y la primera del anticodón se pueden formar apareamientos de bases diferentes a los del tipo Watson y Crick.
 4. El eFE-1 participa en la translocación.

a b c d e

7. (A). Inhibidores de la síntesis proteica:
 - a. La estreptomicina se usa como agente antibacteriano, ya que inhibe la síntesis proteica en los ribosomas 70 S.
 - b. La toxina diftérica produce la degradación del ARNm.
 - c. No se conoce ningún inhibidor que afecte al proceso tanto en los procariotas, como en los eucariotas.
 - d. Los más efectivos son los que afectan los factores de terminación.
 - e. Hay más de una respuesta correcta.

8. (C). Los ARNm eucarióticos son más estables que los bacterianos PORQUE su unión a los ARN citosólicos de pequeño tamaño los protege de la degradación por las ARNasas.

a b c d e

9. (A). Traducción de ARNm:
 - a. La existencia de la caperuza en el extremo 5' de los ARNm eucarióticos dificulta su traducción.
 - b. En las bacterias pueden comenzar la traducción, aunque el extremo 3' esté incompleto.
 - c. El ARN puede ser traducido eficientemente en el núcleo antes de su transformación en ARNm.
 - d. Los ARNm eucariotas suelen ser policistrónicos.
 - e. Hay más de una respuesta correcta.

10. (B) Control de la síntesis proteica:
 1. La unión de las proteínas al extremo 3' suele disminuir la traducción.
 2. El hierro controla la síntesis de las proteínas relacionadas con este metal.
 3. Todos los ARNm eucarióticos se leen con la misma eficacia.
 4. La estructura secundaria de la zona 5'UTR influye en la traducción del mensajero.

a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Abbott CM, Proud CG: Translation factors: in sickness and in health. *TiBS* 2004; 29: 25-31.
- Brosius J: tRNAs in the spotlight during protein biosynthesis. *TiBS* 2001; 26: 653-656.
- Brown BS: An A-B-C of protein biosynthesis. *Biochem Mol Biol Educ* 1993; 21: 37-39.
- Daggett V, Fersht AR: Is there a unifying mechanism for protein folding? *TiBS* 2003; 28: 18-25.
- Kaufman RJ: Regulation of mRNA translation by protein folding in the endoplasmic reticulum. *TiBS* 2004; 19: 152-158.
- Merrick WC: Initiation of Protein Biosynthesis in Eukaryotes. *Biochem Mol Biol Educ* 2003; 31: 378-385.
- Nirenberg M: Deciphering the genetic code – a personal account. *TiBS* 2004; 29: 46-54.
- Pouplana L, Schimmel P: Aminoacyl-tRNA synthetases: potential markers of genetic code development. *TiBS* 2001; 26: 591-596.
- Rodnina MV, Wintermeyer W: Ribosome fidelity: tRNA discrimination, proofreading and induced fit. *TiBS* 2002; 27: 124-130.
- Schneider RJ, Mohr I: Translation initiation and viral tricks. *TiBS* 2003; 28: 130-136.
- Smith S: The world according to PARP. *TiBS* 2001; 26: 174-179.
- Szeberényi J: The Role of a Chaperone in Protein Synthesis. *Biochem Mol Biol Educ* 2003; 31: 137-138.
- Valpuesta JM, Llorca O, Marco S: Biología de las chaperoninas. *Inv y C* 2000; marzo: 52-59.
- Wilkie GS, Dickson KS, Gray NK: Regulation of mRNA translation by 5'- and 3'-UTR-binding factors. *TiBS* 2003; 28: 182-188.

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA

22.1 CONTROL DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN LOS PROCARIOTAS

22.1.1 Introducción

Los procariotas, como organismos unicelulares que son, poseen una gran capacidad para adaptarse al medio en el que viven, regulando la expresión de sus genes para acoplarse adecuadamente a las condiciones del entorno. Ello hace que, de acuerdo con la economía energética, sólo se sinteticen las proteínas que la célula necesita y no aquéllas que no van a utilizarse, ya que el proceso de biosíntesis proteica es muy costoso, desde el punto de vista energético. Así, en último término, son señales metabólicas las que regulan la expresión de un gran número de genes en los microorganismos procariotas.

Cuando la bacteria *E. coli*, por ejemplo, crece en un medio en el que el azúcar glucosa está presente, posee unos niveles muy bajos de proteínas relacionadas con la utilización de otros azúcares, como el disacárido lactosa. Sin embargo, si se hace crecer a *E. coli* en un medio en el que la lactosa es el único azúcar, se induce la síntesis coordinada de tres proteínas relacionadas con la utilización o el catabolismo de la lactosa y, en especial, de β -galactosidasa, la glicosidasa que va a transformar la lactosa en una mezcla de glucosa y galactosa (Fig. 22-1). Esta bacteria es capaz también de sintetizar el aminoácido triptófano por medio de una ruta biosintética en la que participan cinco enzimas. Si al cultivo bacteriano se le suministra triptófano, la célula deja de sintetizar las enzimas biosintéticas, ya que pone en marcha un proceso de represión, por el que el triptófano frena la expresión de las correspondientes enzimas biosintéticas. Estos dos ejemplos muestran cómo moléculas o metabolitos de pequeño tamaño pueden regular la cantidad y el tipo de proteínas presentes en la célula.

El control de la síntesis de proteínas en la célula procariótica puede llevarse a cabo bien regulando la transcripción de los genes correspondientes, o bien, regulando la traducción del ARNm. El control de la expresión de un gran número de genes en las bacterias se ejerce fundamentalmente sobre su transcripción, denominándose estos *genes regulables*, en contraposición con los denominados *genes constitutivos*,

que se expresan de una manera prácticamente constante en la célula. Los genes constitutivos codifican proteínas constitutivas: proteínas y enzimas esenciales que se necesitan en cantidades adecuadas en todos los momentos de la vida celular.

22.1.2 Control transcripcional

El control de la transcripción de los genes regulables viene, en gran parte, mediado por *proteínas reguladoras* que, a través de su interacción con señales concretas, estimulan o disminuyen la transcripción de genes específicos. Las proteínas (*represoras*) que, al unirse al ADN, disminuyen la transcripción de un gen, ejercen un control negativo de esa transcripción, mientras que aquellas otras (*activadoras*) que, al unirse al ADN, estimulan la transcripción de los genes adyacentes ejercen un control positivo. En las bacterias se conocen controles, tanto positivos, como negativos de la transcripción.

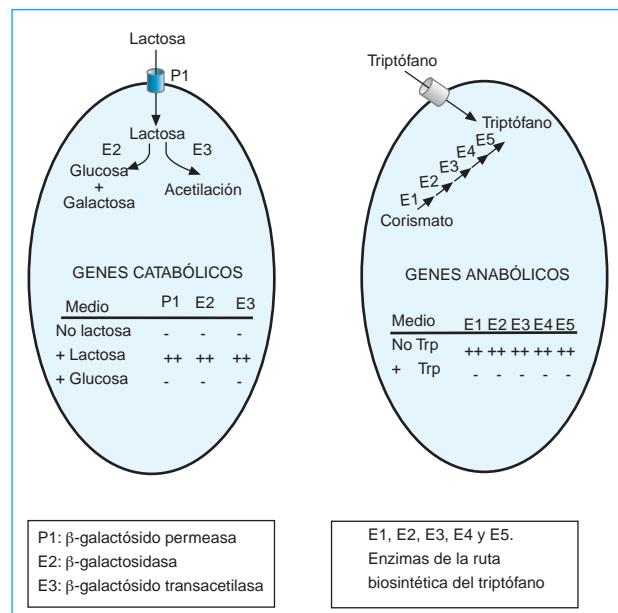


Figura 22-1. Utilización de lactosa y triptófano por *E. coli*.

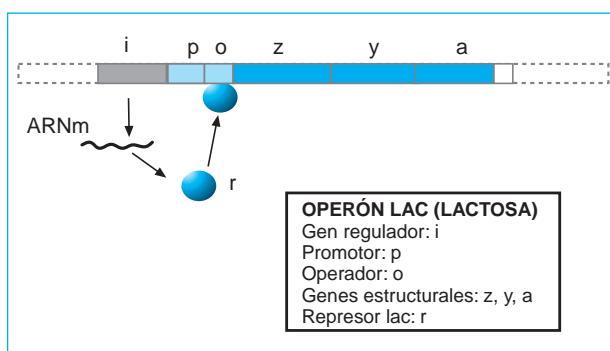


Figura 22-2. Esquema del operón lactosa. El gen regulador i codifica una proteína represora r que, al unirse al operador, evita la transcripción de los genes estructurales (z, y, a).

Los genes regulables que codifican las enzimas de una determinada ruta metabólica no se encuentran dispersos en el genoma bacteriano, sino que suelen ocupar posiciones adyacentes formando parte de una sola unidad de transcripción, por lo que su expresión está coordinada. Estos genes, que se denominan *genes estructurales*, están controlados por una serie de genes o secuencias, llamadas *reguladoras*, que constituyen en su conjunto una unidad denominada *operón*.

El operón lactosa es un ejemplo de un sistema de *inducción* (Fig. 22-2). La transcripción de los genes estructurales (z, y, a), que va a dar lugar a un ARNm policistrónico, portador de la información para la síntesis de las tres enzimas que permiten la utilización de la lactosa por la célula, requiere la unión de la ARN polimerasa a la zona promotora (p). La

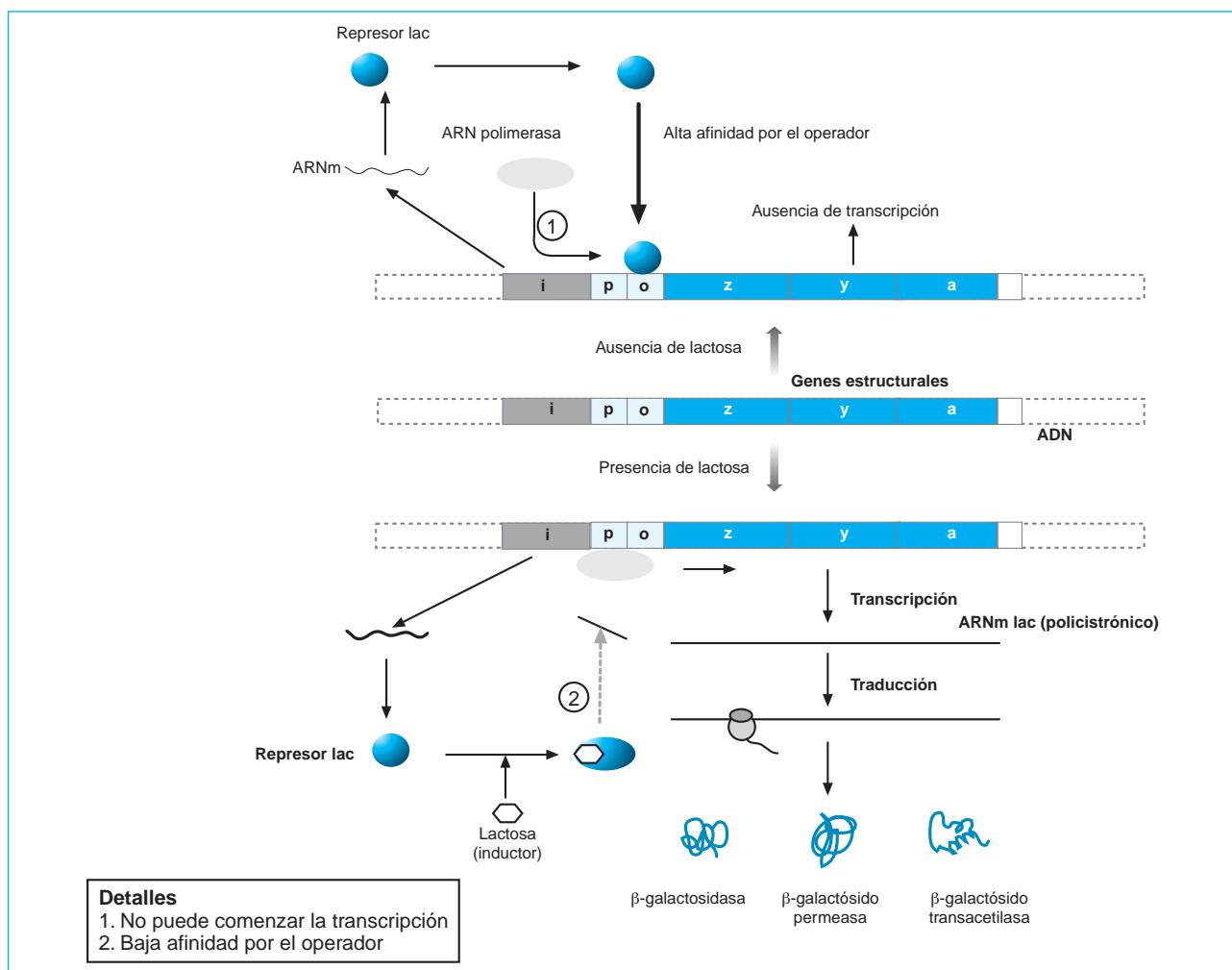


Figura 22-3. Control negativo del operón lac. La transcripción de los genes estructurales depende de la ausencia o presencia de lactosa en el medio de cultivo. En ausencia de lactosa (parte superior), el represor lac se une al operador (o) y evita la transcripción. En presencia de lactosa (parte inferior), ésta se une al represor lac disminuyendo su afinidad por el operador, lo que determina que la ARN polimerasa transcriba los genes estructurales dando lugar a un ARNm policistrónico que traducido produce tres proteínas relacionadas con el catabolismo de la lactosa.

unión de la ARN polimerasa al promotor y su progreso sobre las secuencias génicas se ve dificultada si en el *operador* (*o*), zona del ADN vecina y solapada con el promotor, se encuentra unida una proteína reguladora específica (*represor lac*) que está codificada por un *gen regulador* (*i*). La proteína represora, en ausencia de lactosa, evita la formación del ARNm policistrónico. Cuando la lactosa está presente en el medio, se produce alolactosa (que actúa como *inductor*), la cual se une con gran afinidad al represor, variando la conformación del mismo de tal manera que éste no se puede unir al operador. Con ello, queda libre la zona promotora/operadora, a la que entonces se podrá unir la ARN polimerasa para avanzar cadena abajo y llevar a cabo la transcripción de los genes estructurales, con la consiguiente síntesis de las enzimas correspondientes (Fig. 22-3).

No solamente el operón lactosa está sujeto a un control negativo mediado por el represor lac, sino que la expresión de los genes estructurales está también mediada por un control positivo en el cual participa indirectamente la glucosa. Este control hace que en presencia de glucosa no se induzcan

los genes implicados en el catabolismo de otros azúcares, como lactosa o arabinosa, lo que supone un mecanismo de ahorro biosintético, ya que la célula prefiere utilizar glucosa (de la cual posee enzimas catabólicas) a otros azúcares. Este control positivo viene mediado por una proteína denominada CAP (*proteína activadora de genes catabólicos*), que sólo se une a una secuencia cercana al promotor lac en presencia de AMPc, activando la transcripción de los genes estructurales unas 50 veces.

La glucosa afecta al sistema mediante su acción sobre la concentración de AMPc, la cual es muy baja en presencia de glucosa, aumentando considerablemente cuando la glucosa escasea. La unión de la forma activa de CAP al ADN aumenta la afinidad de la ARN polimerasa por el promotor lac, con el consiguiente incremento de la transcripción. En definitiva, la inducción de la expresión del operón lac necesita, tanto de la presencia de lactosa (para inactivar el represor lac), como de la ausencia o baja concentración de glucosa (para facilitar la unión de la forma activa de la proteína activadora CAP, que es dependiente de AMPc) (Fig. 22-4).

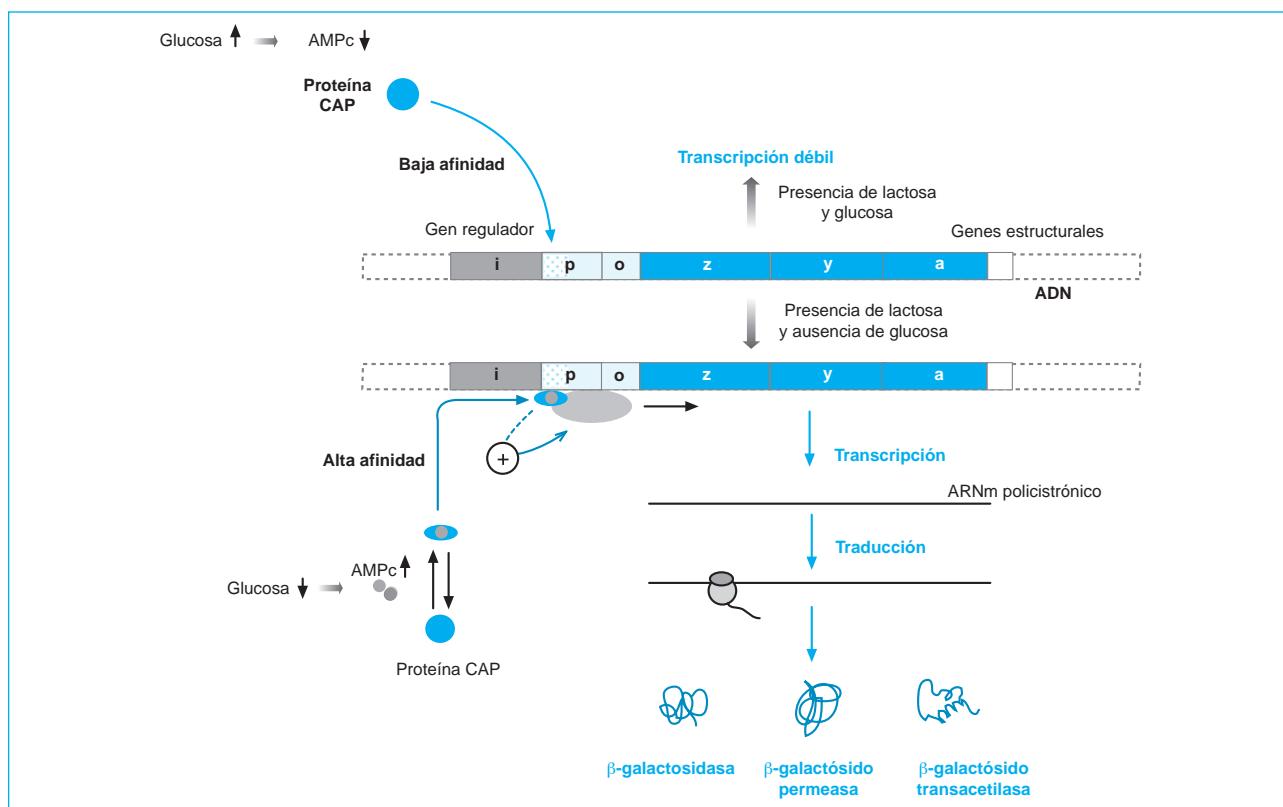


Figura 22-4. Control positivo del operón lac. La transcripción de los genes estructurales también depende de la presencia de glucosa en el medio. En presencia de glucosa y lactosa (parte superior), aunque el operador esté libre, la afinidad de la ARN polimerasa por el promotor es baja, ya que la proteína activadora de la transcripción (CAP) está inactiva por carencia de AMPc. En ausencia de glucosa y presencia de lactosa (parte inferior), los niveles elevados de AMPc activan la proteína CAP, que se une al promotor y estimula la transcripción de los genes estructurales por la ARN polimerasa.

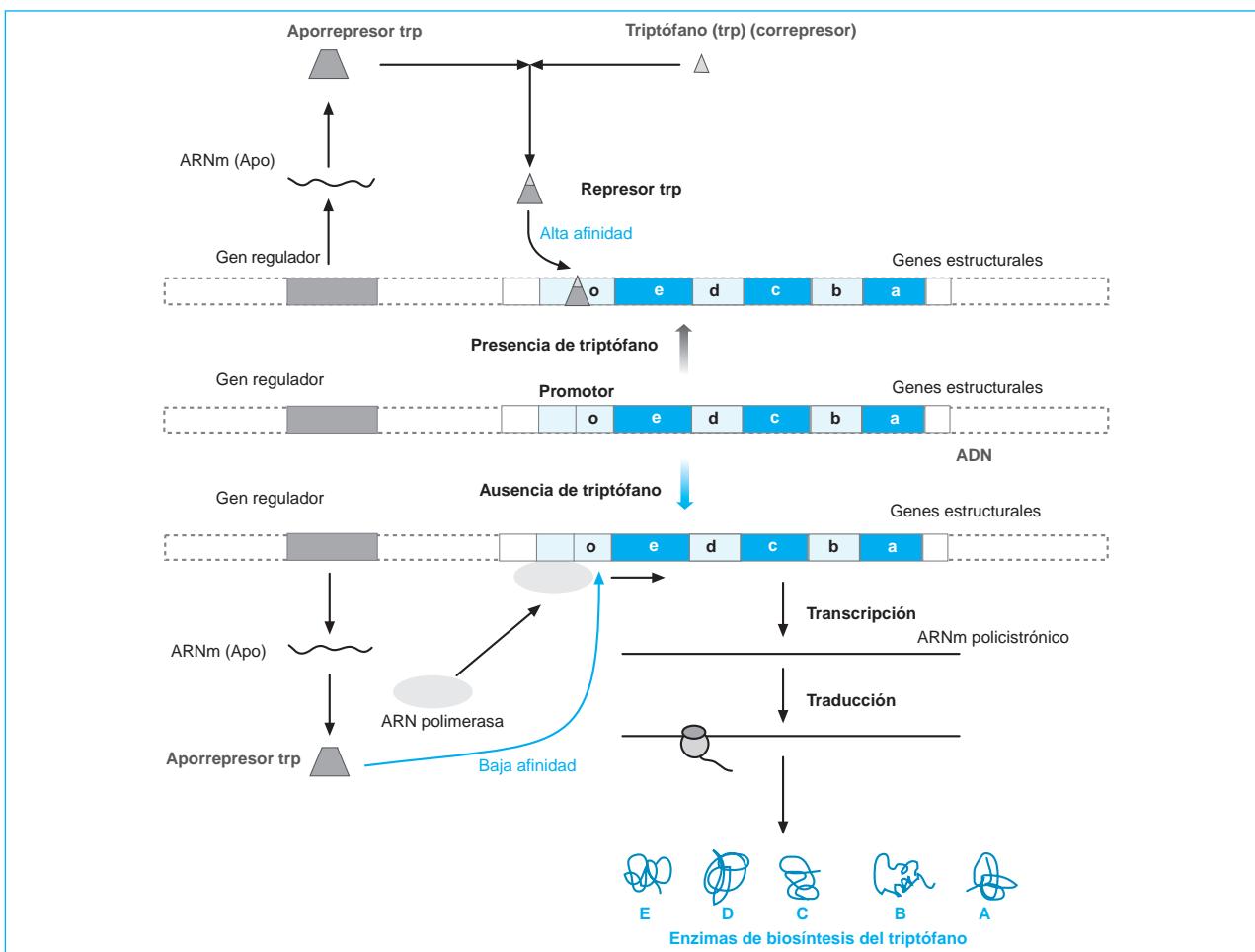


Figura 22-5. Regulación del operón triptófano. La síntesis del triptófano en *E. coli* a partir de corismato depende de cinco enzimas codificadas por cinco genes estructurales adyacentes (*a, b, c, d, e*). En presencia de triptófano en el medio de cultivo (parte superior), las enzimas biosintéticas no se sintetizan, ya que el triptófano se une a una proteína reguladora (aporrevisor) generando el represor trp que se une al gen operador (*o*), impidiendo la transcripción de los genes estructurales. En ausencia de triptófano (parte inferior), el aporrevisor no se une por sí solo al operador, por lo que la ARN polimerasa, tras interaccionar con el promotor transcribe los genes estructurales, dando lugar a un ARNm policistrónico que, traducido, origina a las cinco enzimas que sintetizan el triptófano.

La regulación de la transcripción de los operones bacterianos no sólo afecta a genes de procesos catabólicos, sino que también opera en la regulación de enzimas de rutas anabólicas, como es el caso del control de la síntesis de enzimas que participan en la biosíntesis de los aminoácidos. Así, en ausencia de triptófano (trp) en el medio de cultivo, se sintetizan las cinco enzimas que participan en la biosíntesis de este aminoácido, pero en su presencia se reprime dicha síntesis. Los genes de las cinco enzimas biosintéticas se encuentran ocupando posiciones adyacentes dentro del operón *trp* (Fig. 22-5). Cuando las concentraciones de triptófano son bajas, la ARN polimerasa se une al promotor de la unidad de transcripción dando lugar a un ARNm policistrónico, que sirve para la síntesis de las enzimas biosintéticas. El gen

regulador de este operón codifica una proteína reguladora (aporrevisor), que posee afinidad muy baja por el operador *trp*. Sin embargo, en presencia de triptófano (correpressor), el aporrevisor varía su conformación, dando lugar a la formación del represor, que se une al operador para bloquear la transcripción. Por tanto, el triptófano controla la expresión del operón *trp* mediante un mecanismo de control negativo de la transcripción.

Los genes que codifican las enzimas de una determinada ruta metabólica en las bacterias no siempre se encuentran adyacentes, sino que pueden estar dispersos individualmente o en grupos pequeños. El conjunto de estos genes u operones regulados de forma coordinada se denomina *regulón*.

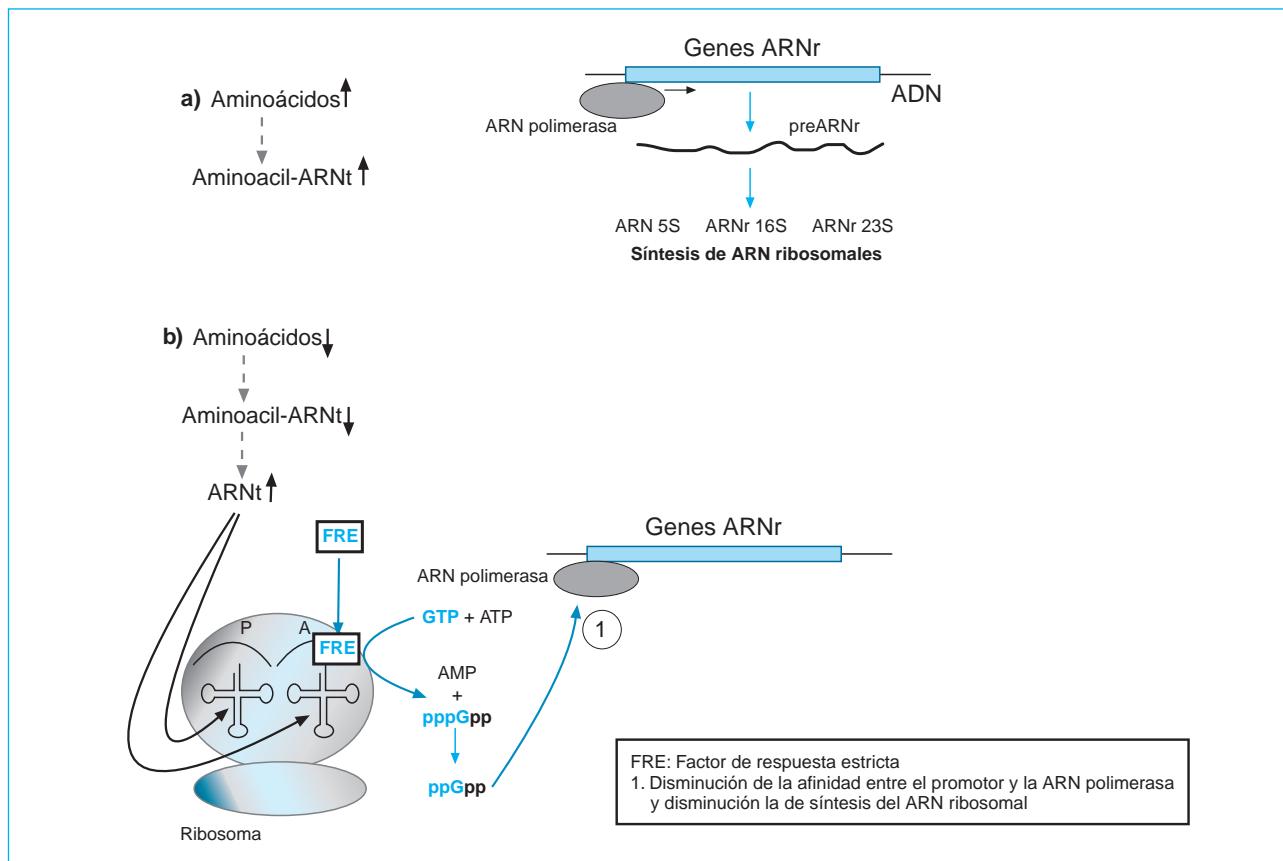


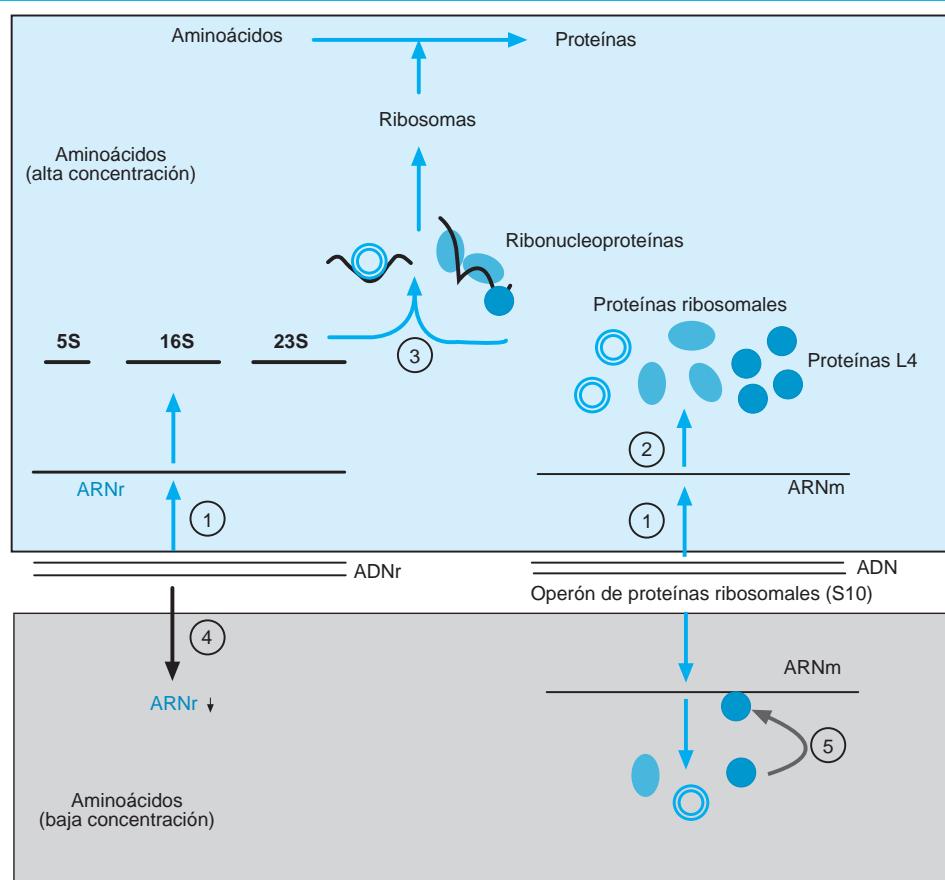
Figura 22-6. Control de la síntesis del ARNr por aminoácidos en *E. coli*. a) En presencia de concentraciones de aminoácidos adecuadas tiene lugar la transcripción de la unidad de transcripción de los ARNr y la síntesis de los tres tipos de ARNr que contribuyen a la formación de los ribosomas. b) Cuando los aminoácidos escasean, disminuyen los niveles de aminoacil-ARNt, lo que repercute en la síntesis del ARNr. En estas condiciones, los ARNt libres pueden acceder al ribosoma y por medio de la proteína FRE, catalizar la síntesis de ppGpp, sustancia que disminuye la afinidad de la ARN polimerasa por los promotores de los genes de ARNr, con el consiguiente descenso de la síntesis de los mismos.

No solamente los mecanismos de control de la transcripción regulan la expresión de la síntesis de muchos ARNm bacterianos; también la síntesis de ARNr en las bacterias está controlada por la concentración de aminoácidos. Cuando ésta es baja, la síntesis de ARNr se detiene, lo que está de acuerdo con la lógica del ahorro energético, ya que sería baldío sintetizar la maquinaria de biosíntesis de proteínas cuando escasea la materia prima (aminoácidos) para la síntesis de las mismas. En este control participa una enzima denominada *factor de respuesta estricta* (FRE), que se une al ribosoma y, en presencia de ARNt descargados (los cuales abundan cuando escasean los aminoácidos) cataliza la formación, a partir de GTP y ATP, de un nucleótido no habitual, un *tetrafosfato de guanosina* (ppGpp), que disminuye la transcripción de los genes de ARNr por la ARN polimerasa (Fig. 22-6).

22.1.3 Control traduccional

Aunque el control mayoritario de la síntesis de las proteínas bacterianas se ejerce sobre la transcripción, también se conocen controles de la síntesis de proteínas ejercidos sobre la traducción, como es el caso en la biosíntesis de las proteínas ribosomales bacterianas. Los diferentes genes que codifican las varias decenas de *proteínas ribosomales* (*proteínas r*) se encuentran repartidos entre una veintena de operones distintos, los cuales contienen desde uno a once genes de *proteínas r*. Así, por ejemplo, el operón denominado S10 (Fig. 22-7) da lugar a un ARNm que, traducido, produce la síntesis de varias proteínas ribosomales, entre las que se encuentra la proteína L4.

Esta proteína ribosomal presenta una gran afinidad por el ARNm del operón S10, lo que hace que la acumulación de la proteína bloquee la traducción de su propio mensajero. En



1. Transcripción
2. Traducción
3. Asociación rápida de ARNr con proteínas ribosomales
4. Carencia de aminoácidos: reducción de ARNr
5. Unión de L4 al ARNm: inhibición de la traducción y reducción de la síntesis de las proteínas ribosomales

Figura 22-7. Control traduccional de la síntesis de proteínas ribosomales. En presencia de aminoácidos (parte superior), se sintetizan los ARNr que tienen gran afinidad por las proteínas ribosomales, dando lugar a la formación de nuevos ribosomas. Cuando escasean los aminoácidos (parte inferior), disminuye la síntesis de ARNr como se veía en la figura anterior, lo que trae como consecuencia que las proteínas ribosomales, al no poder unirse al ARNr, se unan a los ARNm policistrónicos que codifican a las proteínas ribosomales, impidiendo la traducción de los mismos y la síntesis, por tanto, de nuevas proteínas ribosomales.

presencia de ARNr, las proteínas ribosomales que tienen gran afinidad por este tipo de ARN se unen al mismo para formar ribosomas, impidiendo la acumulación de proteínas ribosomales libres. La disminución de la síntesis de ARNr, producida por la escasez de aminoácidos, afecta también a la síntesis de proteínas ribosomales, mediante la acumulación de las proteínas ribosomales represoras de la traducción. En definitiva, la célula bacteriana responde a la falta de aminoácidos disminuyendo la síntesis de ribosomas a través de la disminución de la síntesis de ARNr y proteínas ribosomales.

Finalmente, hay que mencionar que en las bacterias existe un mecanismo de control de la expresión de determinados genes que actúa a nivel transcripcional o traduccional, mediado por la formación de dos estructuras secundarias alternativas en una determinada zona de las moléculas de ARNm, una de las cuales induce la terminación prematura de la transcripción o la represión de la traducción, mientras que la otra no ejerce acciones negativas sobre la expresión del gen. La elección de la formación de una u otra estructura (*riboconmutadores*) depende de la presencia de efectores

que, en muchos casos, son metabolitos de la propia célula bacteriana. Un ejemplo del control de la terminación prematura de la síntesis de una cadena de ARN lo tenemos en el fenómeno de la *atenuación* transcripcional del operón del triptófano, en donde la concentración de este aminoácido regula no sólo el inicio de la transcripción, sino el que sintetice o no el transcripto completo.

22.2 CONTROL DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN LOS EUCA RIOTAS

La regulación de la expresión génica en las células eucarióticas es mucho más compleja que en las bacterianas. Frente a los 3000-4000 genes presentes en un genoma bacteriano, se estima que el genoma humano posee alrededor de 30 000, aunque no todos estos genes se expresan por igual en todas las células del cuerpo humano. A pesar de que todas las células de un organismo pluricelular poseen la misma información genética, ciertas proteínas se sintetizan en todos los tipos de células (*proteínas constitutivas o domésticas*). Por el contrario, otras son específicas de tejidos o células determinadas, pudiendo sintetizarse en cantidades abundantes (como la hemoglobina, en las células eritroides o la albúmina, en el hígado), o en pequeñas cantidades (receptores hormonales, factores de transcripción, etc.). No sólo el tipo de proteína y la cantidad sintetizada varían de una célula a otra; también, la necesidad de una determinada proteína cambia con el tiempo. Durante el desarrollo de los organismos pluricelulares, existe un patrón de expresión génica complejo que hace que

determinadas proteínas que modulan la diferenciación celular se sinteticen en determinados tipos de células durante un período muy corto (*control temporal de la expresión génica*).

Los procesos de regulación de la expresión génica en los organismos eucarióticos, aunque en muchos casos son similares a los que tienen lugar en las bacterias (p. ej., activación transcripcional), presentan mecanismos en los que, tanto la propia estructura del ADN, como las señales y los mediadores son bastante diferentes. Así, los genes de eucariotas no sólo responden a señales nutricionales o ambientales (tipo de alimentos, presencia de metales pesados, temperaturas elevadas, etc.), sino también, a comunicadores intercelulares, como hormonas, neurotransmisores, factores de crecimiento, entre otros.

La cantidad de una determinada proteína puede estar regulada en varios niveles diferentes: pretranscripcional, transcripcional, procesamiento del transcripto primario, estabilidad del ARNm, control de la traducción, modificaciones postraduccionales o degradación de la proteína (Fig. 22-8).

22.2.1 Control pretranscripcional

Para muchas proteínas eucarióticas, el aumento de la cantidad de proteína presente en la célula va asociado a un incremento de la concentración de su ARNm correspondiente, lo que en un porcentaje elevado de casos se produce por un aumento de la transcripción del gen en cuestión. Sin embargo, independientemente del estado de la maquinaria intrínseca de la transcripción como ARN polimerasa y factores de transcripción, la accesibilidad del gen en cuestión a esta

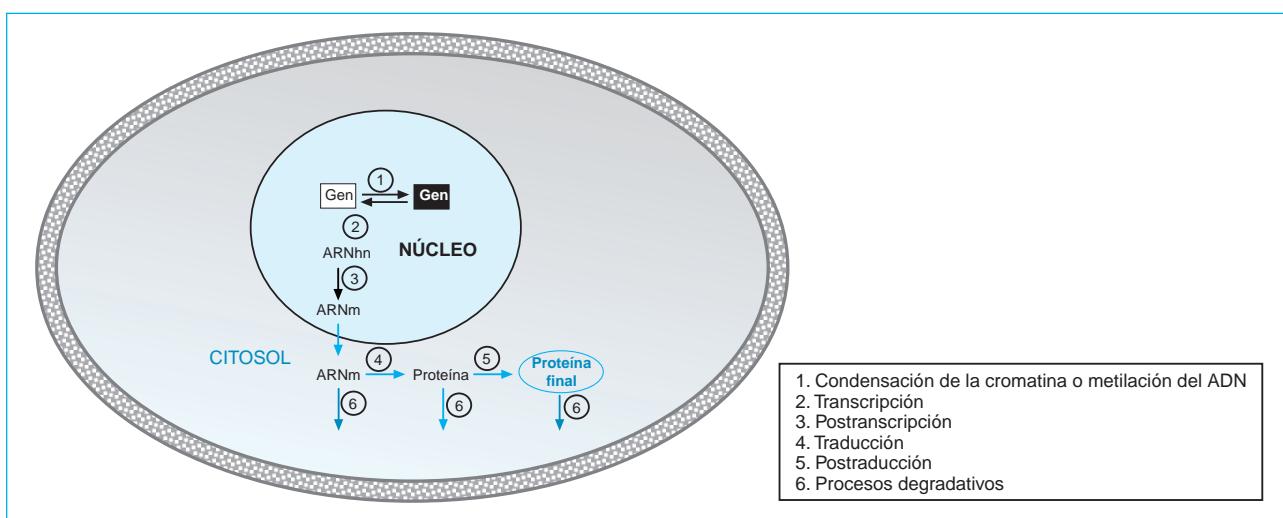


Figura 22-8. Mecanismos de control de la expresión génica en los eucariotas. La síntesis de ARNm en el núcleo está controlada a nivel pretranscripcional (estructura de la cromatina y grado de metilación del ADN), transcripcional (síntesis de ARNhn) y postranscripcional (formación de caperuza, cola de poli(A) y splicing). En el citosol, la síntesis de una proteína funcional depende de los niveles de ARNm (síntesis y degradación), la eficacia de la traducción, la estabilidad de la proteína y las modificaciones postraduccionales.

maquinaria y, por tanto, su disponibilidad para ser transcrita depende de otros factores, como la estructura de la cromatina o el grado de metilación del ADN, constituyendo el nivel *pretranscripcional* de control del gen (control epigenético).

Los genes que se transcriben o genes activos parecen estar dispuestos en estructuras poco empaquetadas de la cromatina (cromatina activa), por lo que son más sensibles a la acción de las ADNasas tras ser incubados *in vitro*; mientras que los genes que no se transcriben en un determinado tejido parecen estar asociados a zonas de cromatina muy compacta, o heterocromatina. En cualquier caso, se sabe que la estructura cromatínica de muchas regiones génicas no es permanente, produciéndose un fenómeno conocido como *remodelado de la cromatina*, mediado por varios complejos de remodelado, que afecta a la estructura de la misma y, en consecuencia, a la accesibilidad de una región génica a las proteínas y los factores de la transcripción.

Parte de este remodelado relacionado con el control de la transcripción se ejerce fundamentalmente sobre la estructura del nucleosoma, en el que puede cambiar temporalmente la interacción del ADN con el octámero de histonas, llegando incluso a producirse un desensamblado parcial y reversible de los nucleosomas. Este remodelado está muy asociado con la modificación covalente de determinados residuos aminoácidos de las histonas. Así, la acetilación de residuos de lisina en la cola amino terminal de las histonas H3 y H4 disminuye la carga positiva de las mismas y, por tanto, su interacción electrostática con el ADN. Existe *acetiltransferasas de histonas* (HAT) en el núcleo celular que llevan a cabo la acetilación de las histonas existentes en zonas concretas del ADN, debido a la presencia en esas zonas de coactivadores transcripcionales.

La desacetilación de las histonas es llevada a cabo por las *desacetilasas de histonas* (HDAC), cuyo anclaje sobre la cromatina parece estar mediado por correpresores. El grado de acetilación dependerá del balance entre activadores y represores. Aparte del remodelado por modificación covalente de las histonas existe un remodelado mediado por un complejo multiproteico, en el que los cambios en la estructura de la cromatina están asociados a la hidrólisis del ATP.

Por otro lado, el grado de *metilación del gen* también afecta a su actividad; así, por ejemplo, el gen de la globina se encuentra altamente metilado en tejidos que no sintetizan esta proteína (p. ej., el hígado), mientras que el nivel de metilación es bajo en las células del sistema hematopoyético, que sintetizan hemoglobina. Casi todos los grupos metilo que se añaden al ADN lo hacen sobre la citosina del dinucleótido CpG. Los extremos 5' de los genes suelen ser ricos en secuencias CG (islotes CG), por lo que se piensa que la metilación de esta zona puede dificultar la interacción con factores de transcripción, con la correspondiente disminución de la misma.

22.2.2 Control transcripcional

La unión de proteínas a secuencias concretas del ADN, tal y como ocurre en las bacterias, es un mecanismo muy importante de activación o represión de la transcripción. Se estima que la presencia de factores de transcripción activos y de proteínas activadoras y coactivadoras es el principal mecanismo de la regulación de la transcripción eucariótica. Mientras que la mayor parte de los genes tiene un solo promotor, algunos genes tienen dos promotores, que funcionan en tejidos diferentes o en diferentes momentos del desarrollo. Estas proteínas activadoras son factores de transcripción específicos (elementos *trans*, véase el Cap. 20) que se activan en respuesta a estímulos concretos, uniéndose a secuencias, también específicas del ADN (elementos *cis*), para activar la transcripción de los genes gobernados por dichas secuencias.

Un ejemplo muy interesante de activación de la transcripción es la mediada por la acción de determinadas hormonas que poseen receptores intracelulares, como es el caso de las hormonas esteroideas (estrógenos, andrógenos, progestágenos, glucocorticoides y mineralocorticoides) y tiroideas. Estas hormonas se unen a receptores propios activándolos y permitiendo que dichos receptores interactúen con secuencias cortas del ADN, específicas para cada complejo hormona-receptor, los llamados *elementos de respuesta a las hormonas* (HRE), lo que favorece la transcripción de los genes que en sus zonas reguladoras (promotores o intensificadores) poseen la secuencia HRE adecuada (Fig. 22-9a). Estos receptores hormonales, por tanto, no son más que factores de transcripción que presentan un sitio de unión específico a su hormona y otro específico de unión a su HRE en el ADN. En otros casos, la activación del factor de transcripción no se produce por interacción directa con la hormona, sino mediante la actuación de un segundo mensajero u otro mediador. Así, algunos genes se activan en respuesta a hormonas que producen un aumento de AMPc, ya que estos genes poseen elementos de respuesta a AMPc (CRE) a los que se unen factores de transcripción activados por la proteína quinasa A (CRE-B) (Fig. 22-9b).

Aunque en la mayor parte de los casos mediados por la interacción de proteínas con ADN en los eucariotas se obtiene un efecto positivo de activación de la transcripción, se conocen otros en los que la interacción produce un efecto negativo, es decir, una inhibición de la transcripción. Existen secuencias reguladoras denominadas *secuencias silenciadoras* que, al interactuar con las proteínas represoras, inhiben la transcripción del gen afectado. En determinados casos, como en el mediado por los receptores de las hormonas tiroideas, éstos en ausencia de hormona se unen al ADN y actúan como represores de los genes que poseen el HRE correspondiente. La unión de la hormona al receptor anula la represión

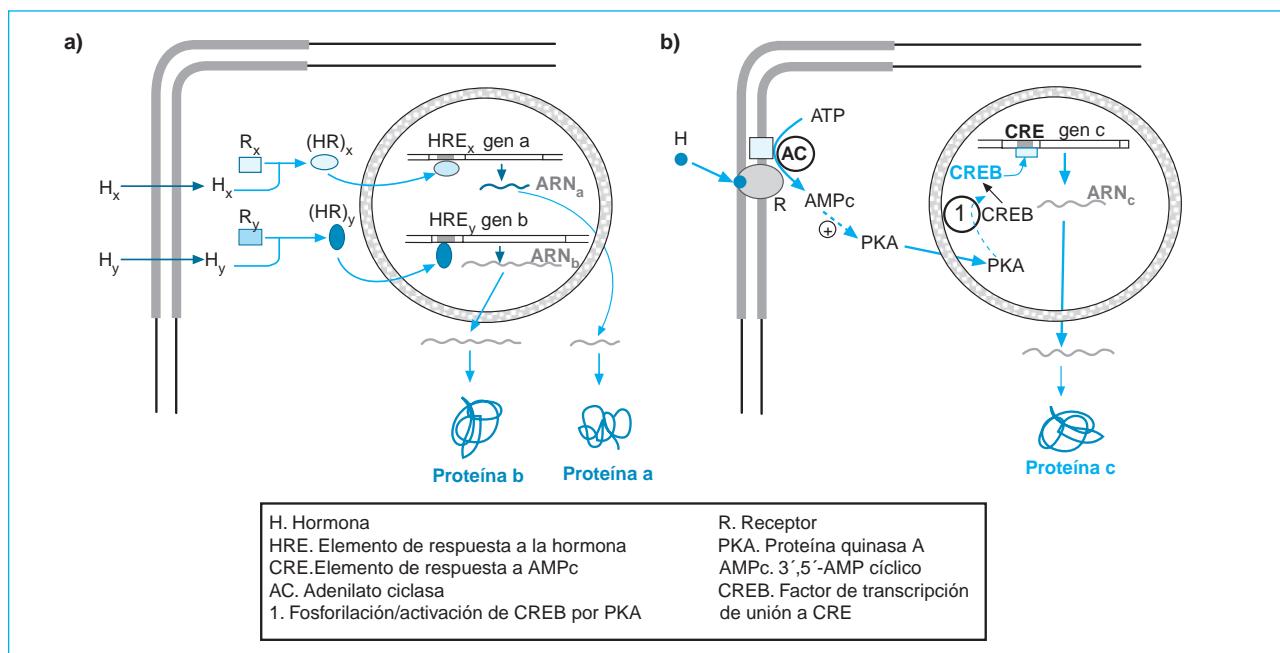


Figura 22-9. Control transcripcional de la expresión génica mediado por hormonas. a) Determinadas hormonas lipofílicas (como las hormonas esteroides) atraviesan la membrana plasmática e interactúan con receptores citosólicos o nucleares que se unen a secuencias específicas del ADN (HRE). Su unión a estos receptores generalmente activa la transcripción de los genes que tienen estas secuencias en su promotor. b) Gran número de hormonas hidrofílicas activan genes tras interactuar con receptores específicos de membrana. En muchos casos, la unión de la hormona al receptor trae consigo la activación de la adenilato ciclase y la síntesis de AMPc, lo que conduce a la activación de la PKA. Esta quinasa da lugar a la fosforilación de la forma inactiva de un factor de transcripción, denominado CREB, que una vez fosforilado es capaz de unirse a secuencias específicas del ADN (CRE) y activar la transcripción de genes que posean este elemento en su promotor.

y facilita la activación de la transcripción. En algunos casos, determinados factores estimulan la transcripción de unos genes, mientras que reprimen la de otros.

22.2.3 Control postranscripcional

Mientras que un gran número de genes eucarióticos forma parte de unidades de transcripción sencillas en las que el transcripto primario sólo puede sufrir un procesamiento único (Fig. 22-10a), otros pertenecen a unidades de transcripción complejas que hacen que a partir de un mismo transcripto primario se puedan formar diferentes moléculas de ARNm y, por tanto, dar lugar a varias proteínas relacionadas, pero diferentes (Fig. 22-10b). En estas unidades complejas, la existencia de más de una señal de poliadenilación posibilita un procesamiento alternativo del ARN primario y la formación de proteínas muy similares pero con diferentes extremos C-terminal.

En otros casos, variaciones en el proceso de *splicing* pueden dar lugar a proteínas diferentes que comparten la secuencia del extremo N-terminal (Fig. 22-10c). Muchos genes po-

seen dos exones terminales alternativos y algunos genes, incluso, pueden tener varios. Un ejemplo interesante de procesamiento alternativo es el del gen de la calcitonina. En el tiroides, el transcripto primario sufre un procesamiento que da lugar a la formación de calcitonina, mientras que en la hipófisis se obtiene un neuropéptido diferente, denominado CGRP (péptido relacionado con el gen de calcitonina) (Fig. 22-11).

Aunque en la mayor parte de los casos, los ARNm formados por el procesamiento postranscripcional son exportados al citoplasma para servir de molde en el proceso de síntesis de las proteínas, existen ejemplos de transcriptos que se degradan en el núcleo sin dar lugar a la formación de ARNm.

22.2.4 Control traduccional

La presencia de una molécula de ARNm en el citoplasma de la célula eucariótica no asegura su traducción, ya que existen diferentes mecanismos que regulan la traducción de las diferentes moléculas de ARNm y, por tanto, la síntesis de determinadas proteínas (véase el Cap. 21). Así, es conocido que en muchos ovocitos se acumulan grandes cantidades de

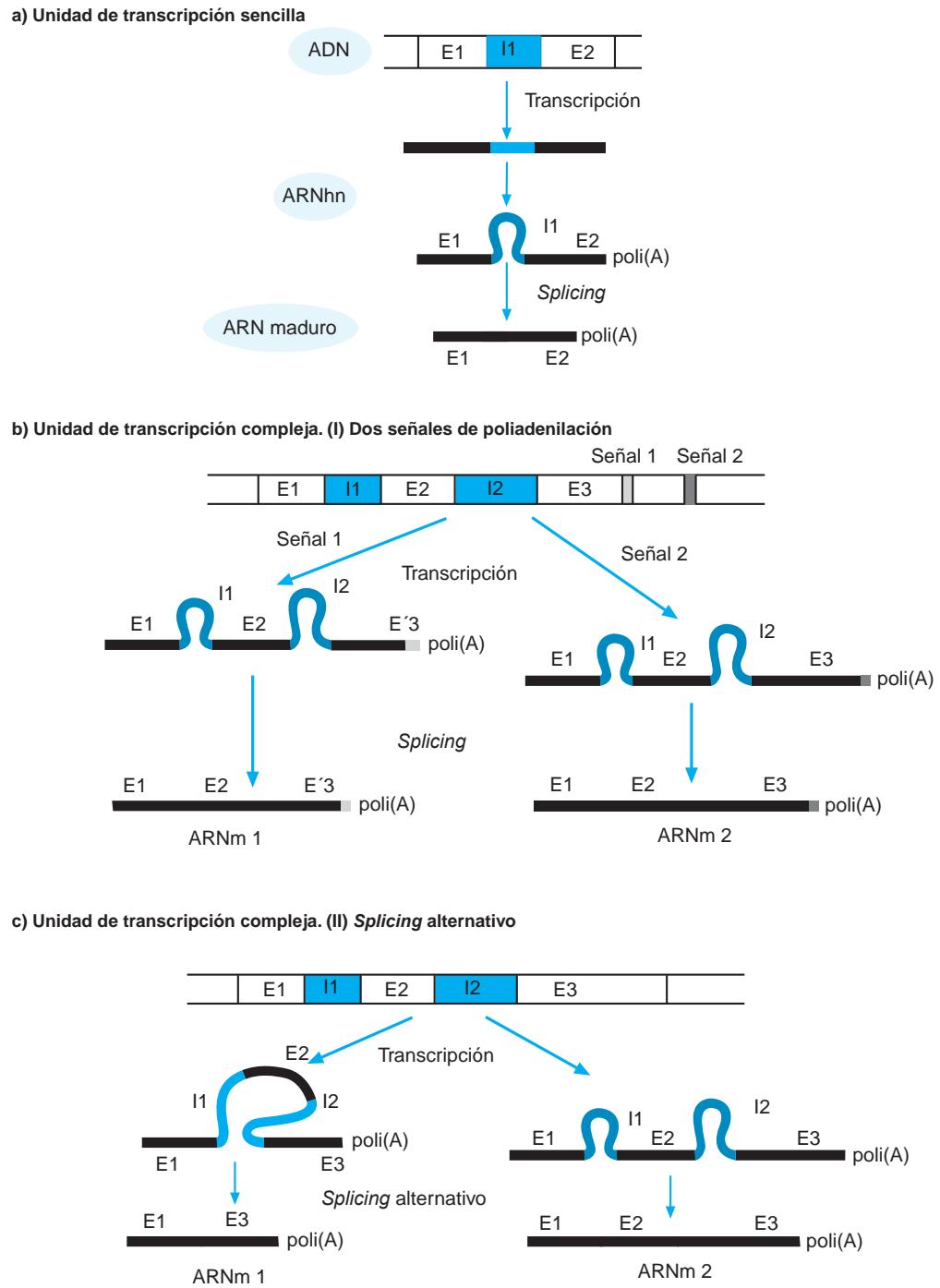


Figura 22-10. Control postranscripcional de la expresión génica. a) Determinados genes o unidades de transcripción sufren modificaciones postranscripcionales sencillas (formación de caperuza, cola de poli(A) y splicing único) que dan lugar a la formación de un único ARNm. b) En determinados casos, en la unidad de transcripción pueden existir dos o más señales de poliadenilación que, de forma dependiente del tejido donde se procesa, pueden dar lugar a la formación de dos o más ARNm y proteínas diferentes. c) En determinados casos, un ARNhn puede seguir diversos procesos alternativos de splicing, dando lugar a la formación de varios ARNm y proteínas diferentes.

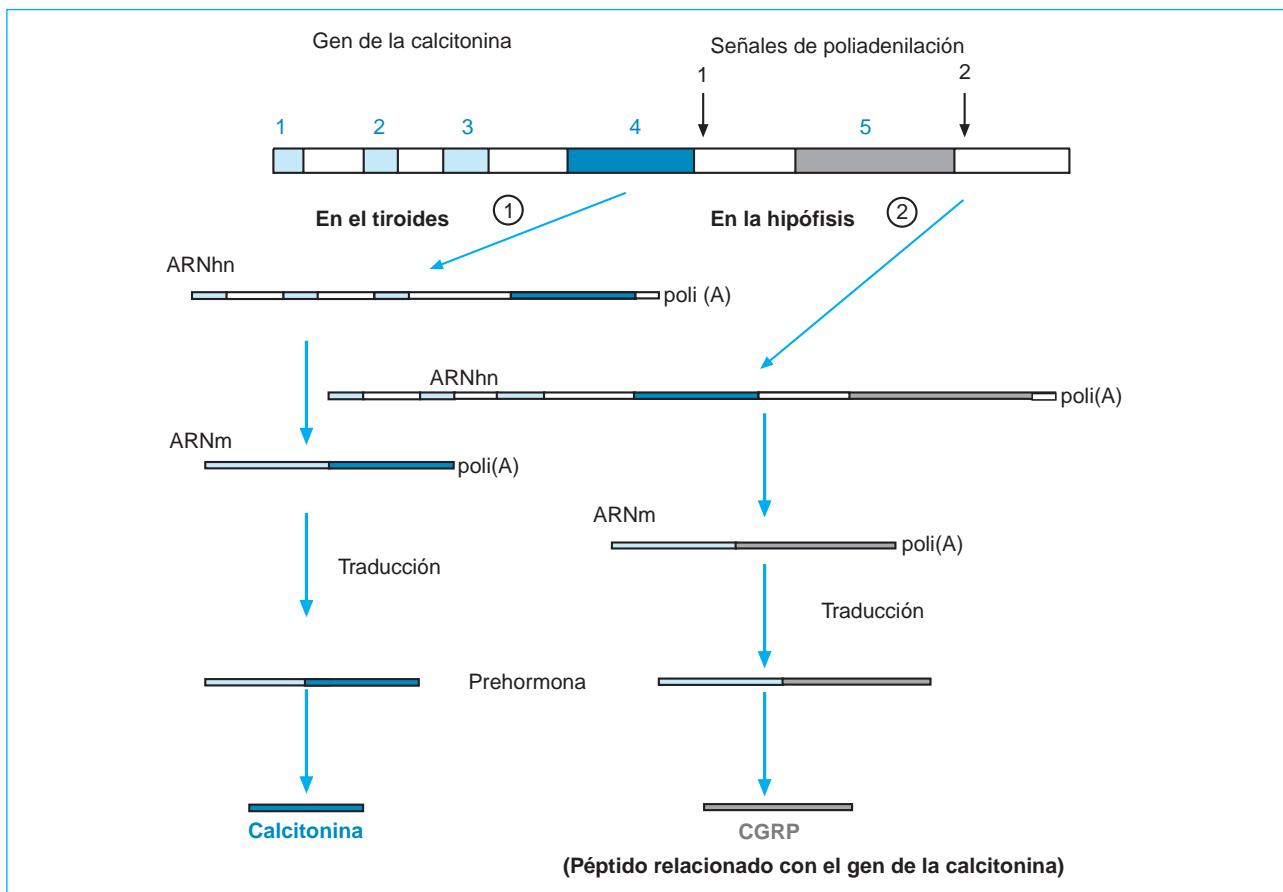


Figura 22-11. Control postrancipacional y síntesis de calcitonina. La existencia de dos señales de poliadenilación (1 y 2) en posiciones diferentes del gen de la calcitonina, da lugar a la formación de dos ARNhn diferentes, en función del tejido donde se exprese el gen. En el tiroides se reconoce la secuencia de poliadenilación existente en el cuarto intrón (1), por lo que se genera un ARN con cuatro exones que, tras procesarse, da lugar a la síntesis de calcitonina. En la hipófisis se reconoce la señal de poliadenilación existente en sentido 3' del quinto exón (2), lo que da lugar a la formación de un ARNhn de mayor tamaño que posee el quinto exón y a la síntesis de una proteína diferente (CGRP) codificada, en gran parte, por este quinto exón.

determinados ARNm, que no son traducidos hasta después de la fertilización.

Los mecanismos moleculares por los que se regula la traducción de los mensajeros parecen ser variados y específicos. Así, una temperatura elevada disminuye la traducción de gran número de ARNm, mientras que estimula la traducción de los ARNm de las proteínas de choque térmico. En el caso de la síntesis de hemoglobina, la traducción del ARNm de la globina requiere la presencia del grupo hemo, el cual inhibe una proteína quinasa que inactiva un factor de iniciación, mientras que en el caso de la ferritina, proteína almacenadora de hierro, este metal estimula la traducción del mensajero de la ferritina mediante la interacción con una secuencia del extremo 5' del ARNm. La estructura secundaria del líder del ARNm parece que desempeña un importante papel en el proceso de iniciación de la traducción.

22.2.5 Otros mecanismos

Regulación de la estabilidad del ARNm

La regulación de la estabilidad de las moléculas de ARNm es otra variante que puede afectar a la cantidad de proteína sintetizada por una célula (véase el Cap. 21). En algunos casos, ciertas hormonas pueden afectar a dicha estabilidad, como ocurre con el mensajero de la *caseína* en las células epiteliales de la glándula mamaria, donde la hormona *prolactina* hace aumentar la vida del ARNm de 5 a 92 horas, lo que genera un aumento de alrededor de 100 veces en la concentración del ARNm de la *caseína*.

Los mecanismos por los que se regula la estabilidad de los ARNm se conocen parcialmente, sabiéndose que la cola de poli(A) y la presencia de secuencias específicas en el extremo 3' no traducido desempeñan un papel importante.

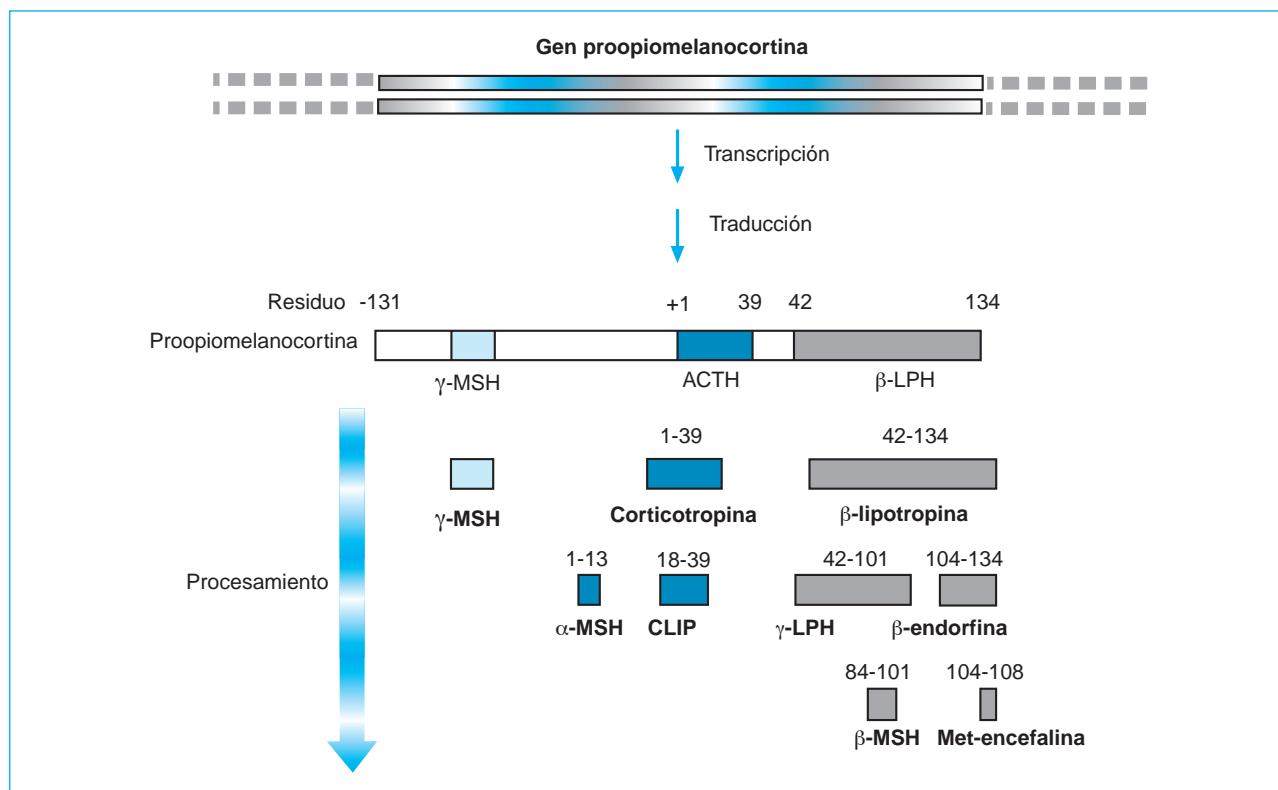


Figura 22-12. Síntesis y procesamiento de poliproteínas. Como consecuencia de la transcripción y traducción de determinados genes se obtienen proteínas (poliproteínas) que, según su procesamiento proteolítico, producen diferentes proteínas o péptidos. Tal es el caso de la proopiomelanocortina (una poliproteína de cerca de 300 residuos) que según el tipo de célula donde se procese da lugar a hormonas, como la ACTH o MSH, o a diferentes péptidos opiáceos.

Así, los mensajeros de las histonas que carecen de la cola de poli(A) poseen una vida media muy corta.

Regulación postraduccional

Existen muchos casos en los que la presencia de una proteína activa depende de la transformación por modificación covalente de una proteína preexistente (véase el Cap. 21). Determinadas proteínas o péptidos proceden de precursores de mayor tamaño (*poliproteínas*) que se procesan de manera diferente, en función del tipo de células (Fig. 22-12).

Reagrupamiento y amplificación de genes

Como ya se ha comentado en el Capítulo 18, aunque la organización del genoma es relativamente estable, existe una pequeña fracción del mismo que puede sufrir cambios, tanto en las células germinales, como en las somáticas.

En los eucariotas inferiores, estos procesos son más comunes que en las células animales. Así, en las levaduras se producen *translocaciones* de copias de genes desde posiciones silenciosas, en las que no se expresan, a posiciones acti-

vas, en las que tiene lugar la transcripción del gen. Mediante el cambio del gen que se encuentra en la posición activa por una copia de otro gen, se puede activar un gen y silenciar otro.

En las células animales, la reorganización de secuencias génicas es un acontecimiento muy poco frecuente, con la excepción del sistema inmunitario. La organización de los genes o secuencias que codifican las inmunoglobulinas es diferente en los linfocitos B, productores de anticuerpos, que en las células germinales o en el resto de las células somáticas del organismo. En cada linfocito B productor de una determinada inmunoglobulina ha tenido lugar una recombinación somática en la que se ha seleccionado una de las diferentes secuencias de cada tipo, para dar lugar a un reagrupamiento único de secuencias, cuya expresión originará a la síntesis de una inmunoglobulina específica en esa célula (veáense los Caps. 19 y 31).

En las células animales también se ha observado el fenómeno de *amplificación* de determinados genes, casi siempre de manera espontánea, sino, más bien, como respuesta a una presión exógena. Así, las células en cultivo se hacen resis-

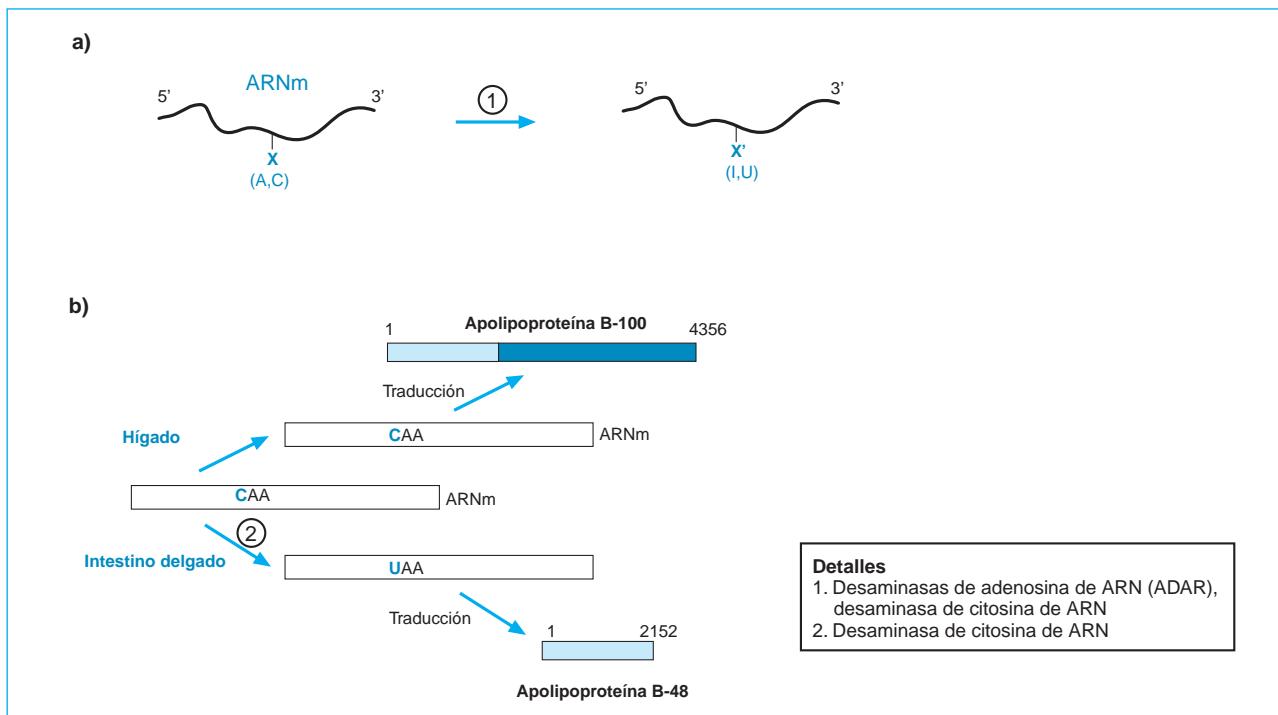


Figura 22-13. Editado o corregido de ARNm. a) Determinadas bases de ciertas moléculas de ARNm son desaminadas enzimáticamente, con la consiguiente transformación en otras bases (C en U, A en I). b) Ejemplo del editado del ARNm de la apolipoproteína B. En el hígado, el ARNm de la apolipoproteína B no se edita, dando lugar, al traducirse, a una proteína de gran tamaño, la apolipoproteína B-100. En cambio, en las células del intestino delgado, una C específica del ARNm correspondiente a la primera base del codón CAA es desaminada enzimáticamente, dando lugar a la aparición de un codón de terminación (UAA) que origina la terminación prematura de la traducción y la síntesis de una proteína similar a la hepática, pero a la que le falta aproximadamente la mitad de la secuencia (apolipoproteína B-48).

tentes a determinados inhibidores enzimáticos, amplificando el número de copias del gen que codifica la enzima afectada por el inhibidor: el metotrexato (inhibidor de dihidrofolato reductasa, DHFR), induce la amplificación del gen de DHFR; el DFMO (un inhibidor de ornitina descarboxilasa, ODC), produce la amplificación del gen de ODC, etc. La amplificación puede ser estable o inestable, en función de que los genes amplificados se incorporen o no en algún cromosoma.

Edición o corrección del ARNm

En determinados casos se ha comprobado que un mismo gen puede dar lugar a dos proteínas de diferente tamaño en tejidos diferentes, en función de un cambio en una sola base de la secuencia nucleotídica del ARNm (*edición del ARNm*) (véase el Cap. 20). Por ejemplo, un triplete interno del ARNm de la apolipoproteína B-100, que en el hígado da

lugar a una cadena polipeptídica de 4536 residuos, es modificado enzimáticamente en el intestino, transformándose el triplete CAA, codificador de lisina, en un triplete de terminación (UAA), por lo que la proteína sintetizada (apolipoproteína B-48) utilizando este ARNm modificado tiene un tamaño menor (2152 aminoácidos), pero una secuencia similar a la mitad N-terminal de la apolipoproteína B-100 hepática. El cambio de C por U lo lleva a cabo una desaminasa específica que se expresa en el intestino, pero no en el hígado (Fig. 22-13).

Como complemento de todo lo expuesto, en el Recuadro 22-1, se discute la complejidad de la interacción de los factores de transcripción con el ADN, relacionando el problema con algunas enfermedades y en el Recuadro 22-2 se trata del interesante tema de la regulación génica postranscripcional por interferencia por ARN, es decir, el silenciamiento del ARN.

Recuadro 22-1.
COMPLEJIDAD DE LA INTERACCIÓN DE LOS FACTORES DE LA TRANSCRIPCIÓN CON EL ADN: ENFERMEDADES ASOCIADAS

Muchos factores de transcripción participan en la regulación de la transcripción específica de ciertos genes. Algunos de estos factores, aunque presentes en concentraciones muy bajas en la célula, han sido clonados, conociéndose detalles estructurales de los mismos, así como las secuencias del ADN a las que se fijan para producir la activación de la transcripción. Determinados factores de transcripción, como el Sp1 que se une a motivos GC, son constitutivos. Otros, como los de la familia AP1, están a su vez regulados por transcripción o por fosforilación-desfosforilación. Los receptores de hormonas esteroideas se activan al unirse a la hormona correspondiente, mientras que los productos de los genes homeóticos actúan en momentos concretos del desarrollo embrionario.

Una característica importante de los factores de transcripción comentados es la de poseer una estructura modular en la que coexisten dominios con función diferente: *dominio de unión al ADN* (DBD), *dominio de activación del complejo de transcripción*, *dominio de unión al ligando*, *dominio de dimerización* (ya que muchos factores de transcripción son dímeros de subunidades idénticas, homodímeros, o diferentes, heterodímeros), etcétera.

Algunos de los dominios característicos de los factores de transcripción comentados tienen una estructura singular que les permite interaccionar con el ADN (dominios básicos, dedos de Zn, hélice-lazo-hélice) o participar en la dimerización (cremalleras de leucina, hélice-giro-hélice). Los dominios de transactivación del complejo de transcripción pueden ser de tipo acídico, ricos en glutamina o ricos en prolina. Así, por ejemplo, la cremallera de leucina permite la dimerización de las proteínas Jun y Fos para formar el factor AP1, y que los dominios básicos de cada monómero puedan interaccionar con el ADN; los dominios dactilares de Zn de

los receptores esteroideos son críticos para la unión al ADN; la hélice de los dominios hélice-giro-hélice en las proteínas homeóticas interacciona con secuencias específicas de ADN, etcétera (Fig. 22-14).

Debido a la importante función de los factores de transcripción, las alteraciones de los mismos ocasionan situaciones patológicas, de mayor o menor gravedad, dependiendo del papel del factor de transcripción alterado. Así, por ejemplo, las alteraciones del receptor de los andrógenos afectan a las acciones génicas mediadas por testosterona y originan una serie de síndromes, como el de síndrome de *feminización testicular* o el de *Reifenstein*, entre otros, que se caracterizan por la resistencia a la acción de la testosterona. Igualmente, las mutaciones en los factores de transcripción que regulan el crecimiento celular (*p53*, *myc*, etc.) se relacionan con el desarrollo del cáncer, mientras que las que afectan a los genes homeóticos codificadores de los factores de transcripción provocan alteraciones del desarrollo y malformaciones congénitas.

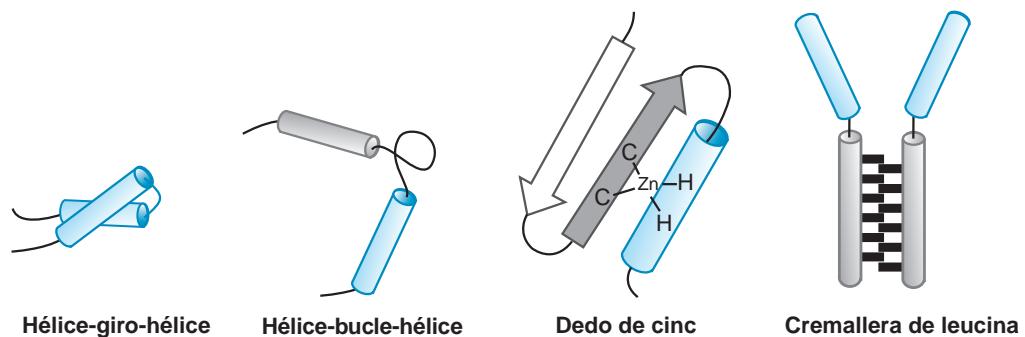


Figura 22-14. Esquemas de dominios típicos de ciertos factores de transcripción. Los cilindros representan estructuras en hélice α y las flechas, estructuras en hoja plegada β . En azul se indican las regiones que interaccionan fuertemente con los surcos del ADN.

Recuadro 22-2.
**REGULACIÓN GÉNICA
 POSTRANScriPCIONAL
 MEDIANTE INTERFERENCIA
 POR ARN O SILENCIAMIENTO
 DE ARN**

En las células eucarióticas existen centenares de moléculas de ARN de tamaño pequeño (alrededor de 22 nucleótidos de longitud) que entre sus posibles funciones se encuentra la de participar en la regulación postranscripcional de determinados genes, por medio de un proceso conocido como *silenciamiento de ARN* o *interferencia por ARN*. Los ARN que participan en este proceso se suelen dividir en dos tipos: *microARN* (ARNmi) y *ARN interferentes pequeños* (ARNsi). Los primeros son moléculas de ARN monocatenario codificadas en el genoma eucariótico que se generan a partir de un precursor de mayor tamaño (~70 nucleótidos), con estructura de tallo-bucle u horquilla derivada de apareamientos intracatenarios, denominado

pre-ARNmi. Los segundos son moléculas de ARN bicatenario que se generan en la célula a partir de moléculas de ARN bicatenario de mayor longitud o bien, son moléculas sintéticas que se introducen en la célula.

Algunas de las moléculas de ARNmi, como los ARNst (ARN temporales pequeños) forman apareamientos incompletos con secuencias casi complementarias de la zona 3'UTR de ARNm concretos, actuando como ARN antisentido, impidiendo la traducción de los mismos. Otros ARNmi, así como los ARNsi interaccionan por medio de un complejo multiproteico citosólico denominado RISC (*complejo silenciador inducido por ARN*) que determina que el ARN interferente se aparee con secuencias complementarias del ARNm, dando lugar a la degradación de éste en la zona de interacción con el ARNsi o ARNmi mediante la actividad denominada *slicer*. Tanto, en la generación de los ARNmi, como de los ARNsi, a partir de sus precursores respectivos, participa una enzima compleja denominada

Dicer que presenta actividad ARN helicasa y ARNasa III (Fig. 22-15).

En las células de mamíferos, el proceso de interferencia inducida por ARN bicatenarios de más de 30 nucleótidos de longitud puede estar enmascarado por la respuesta antiviral que conduce a la inhibición de la síntesis de las proteínas por inactivación del eIF-2, la activación de *ARNasas* y la inducción de la apoptosis (véase el Cap. 28). Sin embargo, la utilización de ARNsi sintéticos puede inducir de manera específica el silenciamiento de genes concretos, lo que tiene gran interés, tanto desde un punto de vista básico, para el estudio de la regulación genética, como aplicado, ya que abre nuevas expectativas en los tratamientos anticancerosos y antivirales por medio de terapia génica.

Se especula con que la existencia del proceso de interferencia por ARN pueda servir también para mantener las funciones cromosómicas, actuando como un mecanismo defensivo del genoma frente a la acción de virus o transposones.

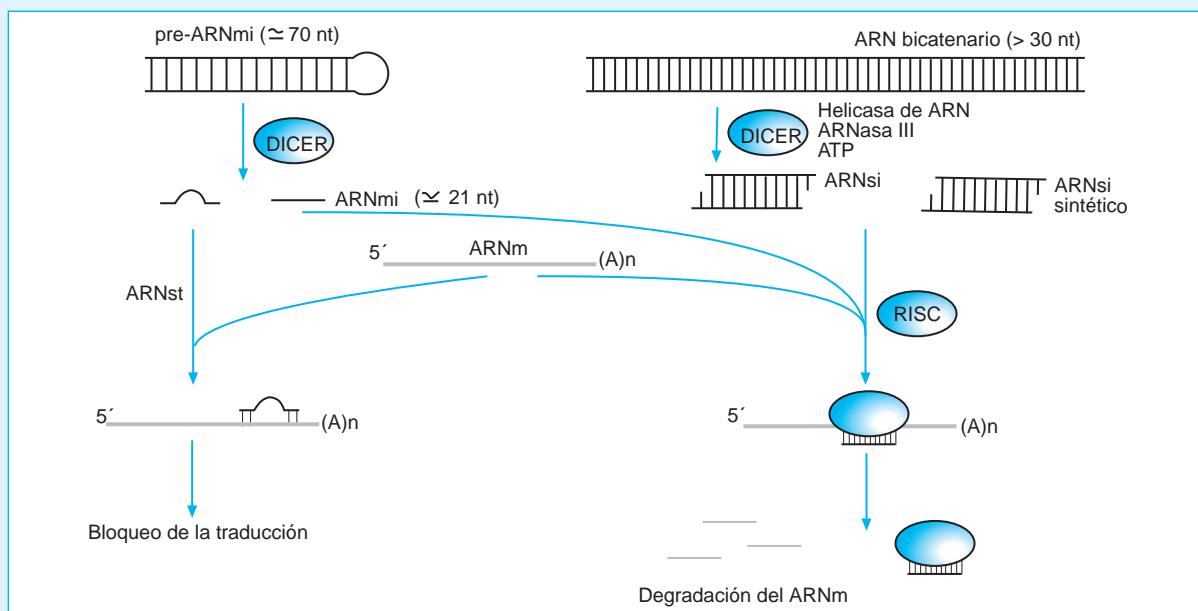


Figura 22-15. Regulación génica postranscripcional por interferencia del ARN. Como consecuencia de procesamientos de ARN bicatenarios de cierta longitud o de determinadas horquillas de ARN (preARNmi) por enzimas DICER se generan pequeñas moléculas de ARN monocatenario (ARNmi) o ARN bicatenario (ARNsi) que disminuyen la síntesis de proteínas, unas veces, bloqueando la traducción de ciertos ARNm, con los que se aparean parcialmente a manera de ARN antisentido (izquierda), y otras, favoreciendo la degradación del ARNm por medio de la formación del complejo silenciador inducido por ARN (RISC), que conduce a la degradación de dicho mensajero (derecha).

RESUMEN

- Una de las características más importantes de los seres vivos, tanto unicelulares como pluricelulares, es su capacidad para regular la expresión de sus genes.
- Mientras que los genes constitutivos se expresan de una manera constante en la célula, la expresión de los genes regulables varía en función de las condiciones internas o externas a la célula.
- En los organismos procariotas, la regulación génica se controla fundamentalmente a nivel de la transcripción, aunque también se conocen controles traducionales.
- En estos organismos muchos de los genes estructurales que codifican para proteínas o enzimas pertenecientes a una determinada ruta metabólica se encuentran ocupando posiciones adyacentes en el genoma, estando asociados a secuencias reguladoras, formando unidades denominadas operones.
- La transcripción de los genes estructurales del operón se produce de manera coordinada dando lugar a un ARNm policistrónico que lleva la información para la síntesis de las proteínas codificadas por dichos genes estructurales.
- El control de la transcripción de los genes estructurales del operón suele estar mediado por proteínas reguladoras que, al unirse a las secuencias reguladoras del mismo estimulan (control positivo) o reprimen (control negativo) la transcripción.
- La actividad de las proteínas reguladoras suele estar mediada por moléculas sencillas que al interaccionar con ellas determinan la inducción o represión de los genes.
- En las bacterias, la escasez de aminoácidos da lugar a una disminución en el número de ribosomas, a través del control negativo de la transcripción de los genes codificantes del ARNr, y del control tradicional negativo de los ARNm codificantes de las proteínas ribosomales.
- En los organismos eucarióticos pluricelulares, la regulación de la expresión génica es mucho más compleja que en las bacterias, ya que existen controles espaciotemporales mediados por la interacción de la célula en cuestión con múltiples factores y señales reguladoras.
- Mientras que determinadas proteínas o enzimas se expresan de manera constitutiva en la mayoría de las células o tejidos (proteínas domésticas), otras son específicas de determinados tejidos o células, variando su nivel de expresión durante el desarrollo o en función de su interacción con hormonas u otros mensajeros intercelulares.
- En los eucariotas existen diferentes mecanismos de control de la expresión génica que actúan a nivel pretranscripcional, transcripcional, postranscripcional, traducional y postraduccional.
- El control pretranscripcional es mediado por aquellos factores que afectan la estructura de la cromatina (por modificación covalente de las histonas, por ejemplo) o el grado de metilación de las islas CpG, facilitando o entorpeciendo el acceso de la maquinaria de transcripción a los promotores o secuencias reguladoras del gen.
- El control transcripcional está mediado fundamentalmente por la combinación de diferentes factores de transcripción que regulan la formación del complejo basal de transcripción y la actividad de la ARN polimerasa II. Gran número de hormonas y factores de crecimiento y diferenciación regulan la actividad génica a nivel transcripcional.
- Los controles postranscripcionales determinan fundamentalmente que de un gen concreto se puedan sintetizar varias proteínas diferentes pero relacionadas en función de las variantes de maduración del ARN mediante *splicing* alternativo o elección de la señal de poliadenilación.
- La eficacia de la traducción depende, tanto de la disponibilidad de ARNm, y por tanto de su estabilidad metabólica, como de la estructura secundaria de determinadas regiones del mismo, en especial de la 5'UTR y de la presencia y actividad de los diferentes factores traducionales, en especial de los factores de iniciación.
- En determinados casos, la presencia de una determinada proteína no depende sólo de que se traduzca su mensajero, sino del control postraduccional de la misma, ejercido, bien mediante la elección del tipo de procesamiento proteolítico, como en el caso de las poliproteínas, o bien, a través de otros tipos de modificación covalente.
- Los reagrupamientos y las amplificaciones de los genes, así como el editado de los ARNm o la presencia de ARN antisentido son otras variantes que sirven para controlar el nivel de expresión de determinados genes en las células eucarióticas.

EVALUACIÓN

1. (A). Operón *lac*.
 - a. La presencia de lactosa estimula la transcripción de los genes estructurales por disminuir la unión del represor *lac* a la secuencia operadora.
 - b. En presencia de glucosa, disminuye la transcripción de los genes estructurales por disminuir la unión de la proteína CAP a la secuencia, en sentido 5' del promotor.
 - c. La lactosa produce la represión de la transcripción a través de un mecanismo de control positivo.
 - d. La unión del represor *lac* al operador estimula la transcripción de los genes estructurales.
 - e. Hay más de una respuesta correcta.

2. (B). Control de la síntesis de ARNr y proteínas ribosomales en las bacterias:
 1. La síntesis de ppGpp estimula la transcripción de los genes de ARNr.
 2. Las proteínas ribosomales tienen una gran afinidad por los ARNr.
 3. La escasez de aminoácidos estimula la traducción de proteínas ribosomales.
 4. Las proteínas ribosomales ejercen un control tradicional negativo de la lectura de sus ARNm.
 a b c d e

3. (A). Control de la expresión génica:
 - a. Los genes regulables se expresan en todos los tipos de tejidos.
 - b. En las bacterias existen controles transcripcionales, pero no traducionales.
 - c. En el operón triptófano, este aminoácido actúa como correpresor.
 - d. Los ribocommutadores funcionan exclusivamente en el control de la síntesis del ARNr.
 - e. Hay más de una respuesta correcta.

4. (B). Regulación de la expresión génica en mamíferos:
 1. Las acetilasas de histonas suelen desfavorecer los procesos de expresión génica.
 2. El remodelado de la cromatina que se produce en respuesta a una hormona afecta por igual a todas las regiones de los diferentes cromosomas.
 3. La metilación de las islas CpG estimula la transcripción.
 4. La metilación de un gen es un proceso irreversible.
 a b c d e

5. (B). Regulación transcripcional de genes nucleares:
 1. Niveles elevados de AMPc pueden favorecer la transcripción de genes que poseen como elemento *cis* la secuencia CRE.
 2. Los receptores de las hormonas esteroideas tienen capacidad para unirse a secuencias específicas del ADN.
 3. En ausencia de la hormona, los receptores de las hormonas tiroideas se unen al ADN y reprimen la transcripción de los genes asociados a sus HRE.

4. La unión de un factor de transcripción al ADN es independiente del grado de condensación de la cromatina:

a b c d e

6. (B). Control tradicional en los eucariotas:
 1. Los ARN interferentes pequeños estimulan la degradación de ARNm específicos.
 2. La unión de proteínas específicas a la región 5'UTR puede disminuir la traducción del ARNm.
 3. Determinadas hormonas como la prolactina, aumentan la estabilidad de determinados ARNm.
 4. Este control afecta la cantidad de proteína sintetizada.
 a b c d e

7. (A). Mecanismos de control de la expresión de los genes:
 - a. El *splicing* alternativo puede dar lugar a la formación de proteínas distintas, pero relacionadas.
 - b. Algunos transcriptos de genes codificantes de proteínas no llegan a alcanzar el citoplasma.
 - c. Una poliproteína sólo puede ser procesada de una sola forma.
 - d. Los genes de las histonas sufren un *splicing* muy complejo.
 - e. Hay más de una respuesta correcta.

8. (C). Una mutación que elimine el gen regulador del operón *lac* hará que la expresión de los genes estructurales sea insensible a la presencia de lactosa en el medio de cultivo de *E. coli* PORQUE la unión del represor lac a la *ARN polimerasa* es clave para el inicio de la transcripción:

a b c d e

9. (A). Mecanismos de regulación génica en los seres humanos:
 - a. Las apolipoproteínas B-100 hepática y B-48 intestinal proceden de la transcripción del mismo gen.
 - b. En el hígado tiene lugar el editado del ARNm de la lipoproteína, que da lugar a la síntesis de una proteína truncada.
 - c. La presencia del grupo hemo inhibe la traducción del ARNm de las globinas.
 - d. La amplificación génica es un proceso que se produce fácilmente de forma espontánea en las células normales.
 - e. Hay más de una respuesta correcta.

10. (B). Regulación de la estabilidad de las moléculas de ARNm:
 1. En la longevidad de un ARNm es importante la longitud de su cola de poli(A).
 2. Los micro ARN aumentan la vida media del ARNm asociándose a la cola de poli(A).
 3. En la degradación de los ARNm mediada por los ARNsi participa el complejo enzimático RISC.
 4. Los ARNm bacterianos son muy estables, ya que en bacterias no existen *ARNasas*.
 a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Bach I, Ostendorff HP: Orchestrating nuclear functions: ubiquitin sets the rhythm. *TiBS* 2003; 28:189-195.
- Celada A: Factores de transcripción y control de la expresión génica. *Inv y C* 1991; agosto: 42-49.
- Doolittle FF, Bork P: Módulos móviles en la evolución de las proteínas. *Inv y C* 1993; diciembre: 22-29.
- Ibba M: mRNA decay: the big picture. *TiBS* 2002; 27: 335-336.
- Le-Hir H, Nott A, Moore MJ: How introns influence and enhance eukaryotic gene expression. *TiBS* 2003; 28: 215-220.
- Nudler E, Mironov AS: The riboswitch control of bacterial metabolism. *TiBS* 2004; 29: 11-17.
- Rhodes D, Klug A: Dedos de zinc. *Inv y C* 1993; abril: 26-36.
- Szeberényi J: Lactose Operon Mutants. *Biochem Mol Biol Educ* 2002; 30: 420-421.

SECCIÓN V

GENOMA, PATOLOGÍA MOLECULAR Y TERAPIA GÉNICA

Capítulo 23: Análisis molecular del genoma

Capítulo 24: Proyecto Genoma Humano y Genómica

Capítulo 25: Patología molecular y terapia génica

23.1 INTRODUCCIÓN

Las técnicas de análisis molecular del genoma desarrolladas a partir de los años setenta del siglo pasado han revolucionado nuestro conocimiento del nivel molecular de muchos procesos biológicos normales y patológicos. Actualmente, es posible localizar, identificar, amplificar y secuenciar los genes que codifican las proteínas esenciales, y los elementos reguladores de su expresión. También es factible provocar la expresión de genes en sistemas apropiados, para analizar su función o producir grandes cantidades de las proteínas que codifican. Además, se han desarrollado técnicas que permiten obtener animales de experimentación, generalmente ratones, en los que se ha anulado selectivamente la función de un gen (*animales knockout*), o se ha incorporado un gen nuevo (*animales transgénicos*).

Todo ello ha conducido a un conocimiento más preciso de las bases moleculares de muchas enfermedades y a nuevas posibilidades terapéuticas. Desde el punto de vista biomédico, a pesar de su relativa juventud, las técnicas de análisis molecular del genoma permiten: a) identificar las alteraciones genéticas asociadas a enfermedades hereditarias y, en algunos casos, corregirlas; b) identificar las mutaciones responsables de trastornos genéticos no hereditarios, como los cánceres esporádicos; c) proporcionar métodos extraordinariamente sensibles de diagnóstico precoz y diferencial de muchas enfermedades; d) producir proteínas u otras moléculas de interés farmacológico, a un coste razonable; e) identificar a los individuos más susceptibles a una determinada patología, sentando las bases de una «medicina predictiva».

Esta enumeración de posibilidades, aunque impresionante, no es exhaustiva. En este capítulo describiremos las principales técnicas de clonación, caracterización y secuenciación de genes. Comentaremos también la amplificación del ADN mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y algunas de sus aplicaciones biomédicas. Los aspectos de la tecnología del ADN encaminados a la corrección de determinadas enfermedades se tratarán en el Capítulo 25.

23.2 CLONACIÓN MOLECULAR: PRINCIPIOS Y DEFINICIONES

La caracterización molecular de un gen requiere tanto su identificación y aislamiento a partir del resto del genoma, como su amplificación para poder obtener cantidades suficientes para su análisis. Aunque es posible amplificar *in vitro* fragmentos de ADN mediante la PCR, la identificación y amplificación de genes de interés se realiza muy a menudo recurriendo a técnicas que permiten multiplicar *in vivo* un gen determinado tras la introducción de una única copia del mismo en una célula hospedadora, generalmente bacteriana. El número de copias del gen aumenta a medida que se multiplica el organismo hospedador. El proceso, en su conjunto, se denomina *clonación molecular*. En general, la clonación molecular de un gen requiere los siguientes pasos:

- Aislamiento del ADN (o del ARN) total de las células de las que proceda el gen.
- Ruptura del ADN en fragmentos de tamaño apropiado, o bien, la síntesis del ADN complementario (ADNc), que es una copia de los ARN mensajeros, obtenida mediante la enzima transcriptasa inversa.
- Combinación de los fragmentos con otras secuencias de ADN que permitan su introducción y replicación estable en la célula hospedadora. Las moléculas resultantes de esta unión se denominan ADN recombinantes.
- Introducción del ADN recombinante en las células hospedadoras y multiplicación de éstas.
- Identificación y amplificación de la célula hospedadora portadora del gen de interés.

El aislamiento del ADN (o ARN) celular total es relativamente sencillo. Sin embargo, la identificación de una secuencia concreta entre los miles o centenares de miles de fragmentos de la población global de ADN es un proceso más complejo, que requiere, entre otras cosas, disponer de una sonda o marcador específico para seleccionar el gen en cuestión.

La transferencia de ADN entre células, o la introducción de un ADN foráneo en un determinado organismo, es un fenómeno altamente restringido en los seres vivos. Incluso en los casos que presentan mayor eficacia de introducción de ADN en un huésped (p. ej., los virus), existen mecanismos de defensa de la célula hospedadora, como los sistemas de restricción bacterianos, que detectan y degradan el ADN extraño. A pesar de estas barreras, es técnicamente posible introducir ADN en células hospedadora, procarióticas o eucarióticas, mediante tratamientos específicos que se comentan más adelante.

Para que un fragmento de ADN quede permanentemente presente en la célula hospedadora y su descendencia, es necesario que vaya unido a otras secuencias de ADN que confieran al conjunto la capacidad de autorreplicación y que permitan, además, diferenciar fácilmente las células que han captado el ADN (se han transformado) de las que no lo han hecho. Por ello, es necesario unir *in vitro* los fragmentos de ADN que se quieren clonar (*ADN foráneo o inserto*) a una molécula de ADN (denominada *vector*) con capacidad de ser introducida, replicada y seleccionada en las células hospedadoras. La unión covalente de dos moléculas de ADN para dar un ADN híbrido, denominado *ADN quimera* o *ADN recombinante*, es posible realizarla mediante el uso de las enzimas denominadas *ADN ligasas*.

En la mayor parte de los casos, el material de partida para la clonación de un gen es una colección compleja de fragmentos unidos al vector correspondiente. Antes de seleccionar el gen de interés, esta colección debe introducirse en células hospedadoras adecuadas, por ejemplo, en un cultivo bacteriano. El huésped amplifica los fragmentos recombinantes, facilitando su identificación. Como la *transformación* del huésped por introducción de moléculas recombinantes se realiza en condiciones de gran exceso de células hospedadoras y de eficiencia limitada, se necesitan mecanismos sencillos para poder distinguir las bacterias que han captado ADN de las que no lo han hecho. La selección de las bacterias transformadas es sencilla cuando el vector les confiere una nueva característica fácilmente identificable. Los marcadores más útiles empleados en vectores de tipo plasmídico son genes de resistencia a antibióticos, como *ampicilina* o *tetraciclina*. Estos vectores se emplean con bacterias hospedadoras sensibles al antibiótico. Así, las bacterias transformadas pueden crecer en medios que contengan el antibiótico, pero las células que no hayan captado el ADN, no lo harán.

La identificación de las células transformadas por un ADN recombinante concreto, que han incorporado un inserto específico entre los muchos posibles, requiere la posesión de un método de detección del gen o producto del gen. Normalmente, se emplean fragmentos de ADN de tamaño

variable y secuencia complementaria a la del gen de interés, denominados *sondas génicas*, o un anticuerpo frente a la proteína codificada por éste. Estos reactivos específicos permiten aislar un *clon recombinante* (conjunto de células que derivan de una célula originaria que captó un ADN recombinante específico), entre las diferentes colonias presentes en las placas donde se han sembrado las bacterias hospedadoras. La amplificación del clon por siembra en un medio de cultivo líquido permitirá multiplicar a voluntad el inserto clonado (Fig. 23-1).

23.3 MANEJO DEL ADN

23.3.1 Aislamiento y fragmentación del ADN

Para su clonación, los fragmentos de ADN deben tener unas dimensiones determinadas y limitadas. El tamaño del ADN genómico, sea procariótico o eucariótico, es muy superior al máximo posible para un inserto. Por ello, la clonación de genes a partir del ADN genómico requiere el aislamiento previo del ADN (p. ej., por lisis de las células y centrifugación en gradiente de cloruro de cesio) y su ruptura en fragmentos de tamaño adecuado. Casi siempre se realiza una fragmentación específica mediante *endonucleasas de restricción*, enzimas presentes en muchas especies bacterianas.

Existen diversos tipos de endonucleasas de restricción, siendo las de tipo II las más utilizadas para la fragmentación específica del ADN. Cada endonucleasa de restricción (se dispone de varios centenares) reconoce una secuencia concreta de ADN, generalmente una *secuencia palindrómica*, con una longitud de entre cuatro y ocho pares de bases. Algunas endonucleasas cortan ambas cadenas de ADN dentro de la secuencia diana y en posiciones equivalentes, generando fragmentos con extremos romos sin bases despareadas.

Otras endonucleasas cortan las cadenas en posiciones alternas, dando lugar a la formación de extremos monocatenarios con secuencias complementarias, denominados *extremos cohesivos* (Tabla 23-1). Los fragmentos producidos al tratar dos moléculas de ADN de diferente procedencia con una misma endonucleasa que genere extremos cohesivos, tenderán a asociarse por complementariedad de los extremos monocatenarios. El tamaño medio de los fragmentos de restricción producidos depende de la frecuencia de la diana en la molécula de ADN. Para una diana de seis pares de bases, es algo inferior a 10 kb. Dichos fragmentos pueden separarse, en función de su tamaño, por *electroforesis* en geles de agarosa (Fig. 23-2).

La degradación de moléculas pequeñas de ADN (un plasmido o un ADN viral) produce un número limitado de fragmentos que se localizan como bandas en el gel, por tinción

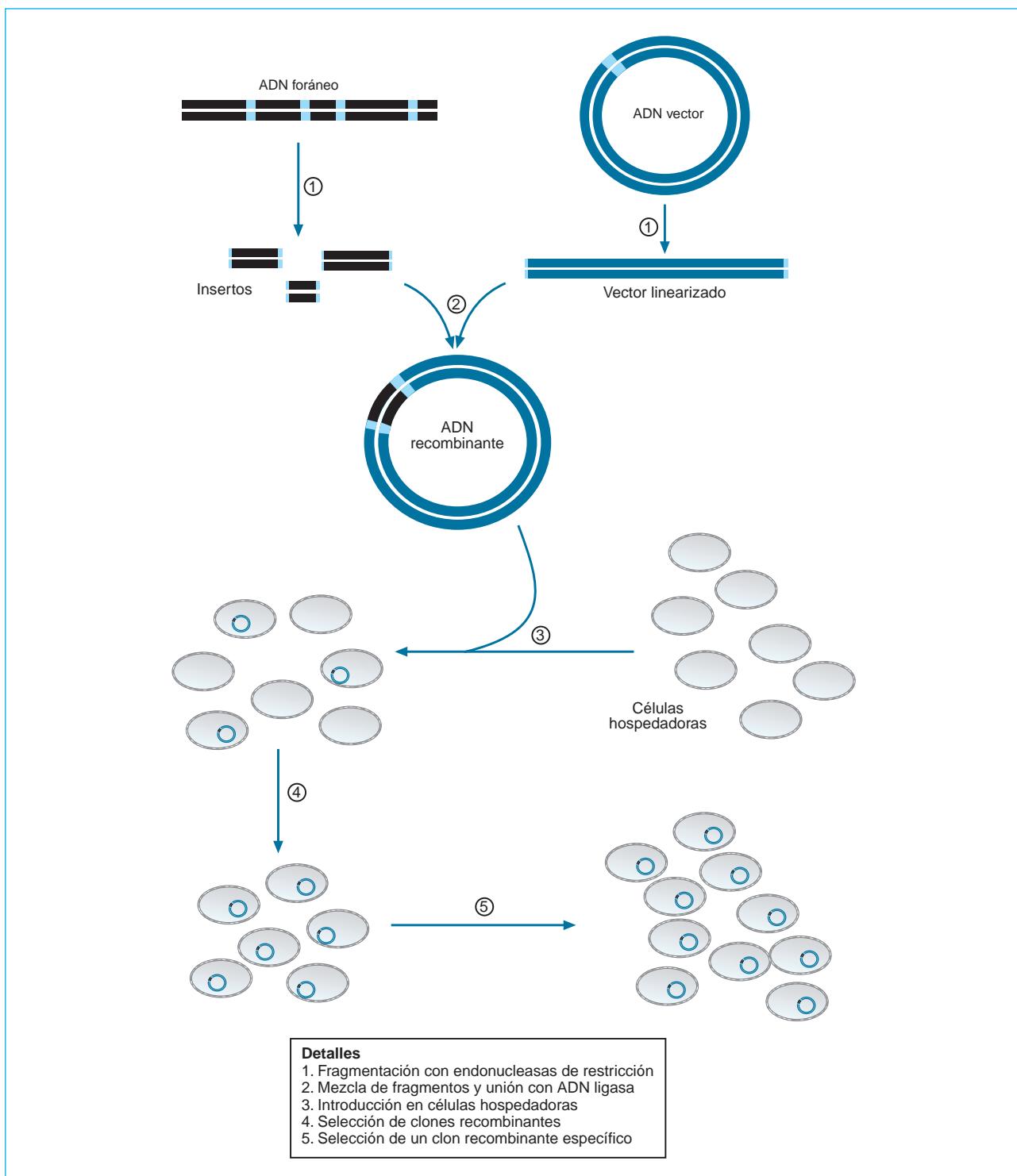
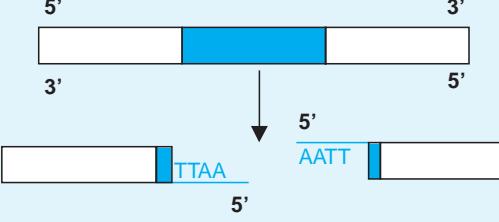
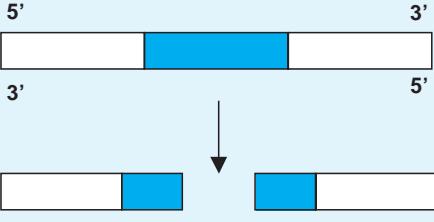
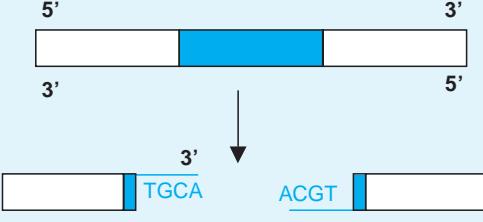


Figura 23-1. Obtención y clonación celular de ADN recombinante. Parte superior: obtención de ADN recombinante mediante unión de los fragmentos generados a partir de un determinado ADN con un ADN vector (un plásmido, en este caso). Parte inferior: introducción del ADN recombinante en las células bacterianas hospedadoras (deben ser sensibles a un antibiótico frente al que el plásmido porta un gen de resistencia), selección de las células transformadas mediante cultivo en presencia del antibiótico, selección de una colonia que porta un fragmento o inserto específico y amplificación del ADN recombinante elegido mediante cultivo del clon elegido, lo que permitirá obtener una gran cantidad del ADN recombinante para su secuenciación o expresión.

Tabla 23-1. Endonucleasas de restricción de tipo II (ejemplos)

Nombre	Secuencia diana	Extremos generados
<i>EcoRI</i>	↓ GAATTC CTTAAG ↑	 <p>Extremos cohesivos 5'</p>
<i>HaeIII</i>	↓ GGCC CCGG ↑	 <p>Extremos romos</p>
<i>PstI</i>	↓ CTGCAC GACGTG ↑	 <p>Extremos cohesivos 3'</p>

con un compuesto fluorescente (normalmente *bromuro de etidio*), y cuyo tamaño se establece por comparación con marcadores de longitud conocida. Sin embargo, la digestión con endonucleasas de restricción del ADN genómico (conjunto del ADN cromosómico) da lugar a multitud de fragmentos heterogéneos, que no se detectan como bandas definidas por tinción con bromuro de etidio. La detección como una banda de un fragmento concreto puede efectuarse si se dispone de una sonda específica que se asocie con él.

23.3.2 Transferencia de Southern y detección de fragmentos génicos por hibridación.

Obtención de sondas

Una sonda es un fragmento de ADN marcado (casi siempre con ^{32}P) que permite detectar secuencias complementarias

tanto de ARN, como de ADN, mediante un proceso denominado *hibridación*, que supone la formación de estructuras bicanterarias híbridas a partir del fragmento a detectar y la sonda. Para que la unión de la sonda y el fragmento de ADN diana se produzca, ambas moléculas deben tener una estructura monocatenaria que permita el apareamiento de bases. Por ello, es necesario desnaturalizar los fragmentos correspondientes (mediante calor o tratamiento alcalino) antes de la hibridación. En el caso de la detección de un fragmento génico, entre los diferentes separados por electroforesis, el ADN se transfiere desde el gel hasta un soporte de nailon o nitrocelulosa, donde queda reproducida la distribución de fragmentos del gel (*transferencia de Southern*) (Fig. 23-3).

Para ello, el gel se trata en un medio alcalino, que desnaturiza los fragmentos de ADN separados por electroforesis,

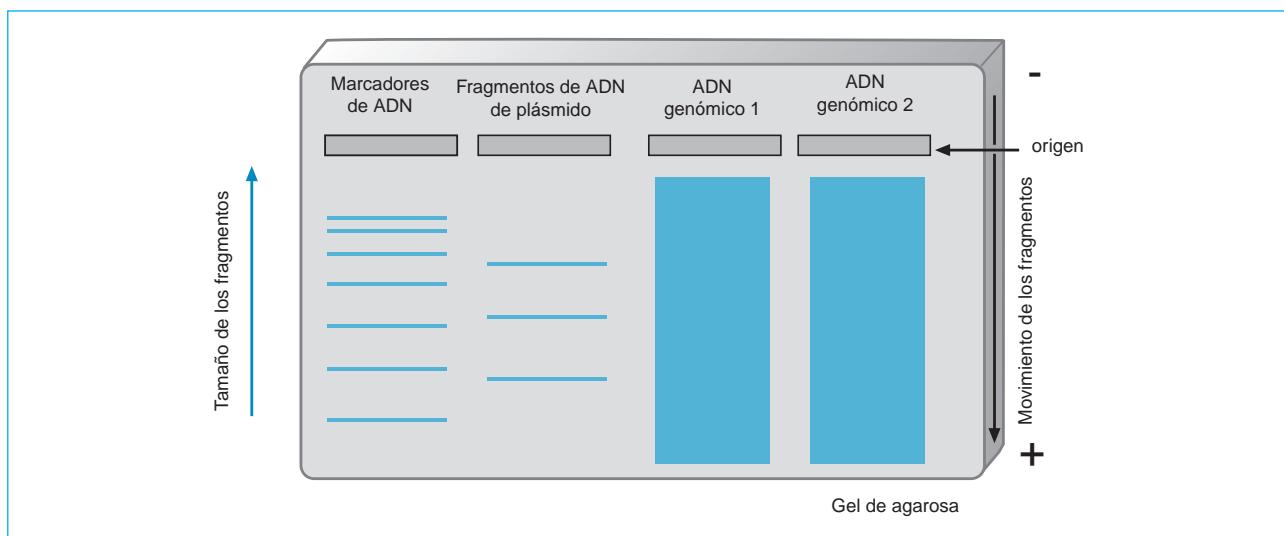


Figura 23-2. Separación de fragmentos de ADN mediante electrofóresis en geles de agarosa. En un campo eléctrico, las moléculas de ADN que portan carga negativa se desplazan hacia el polo positivo en orden inverso a su tamaño molecular. La visualización de los fragmentos se puede realizar mediante tinción con bromuro de etidio. En el esquema, a la izquierda, se representa la separación de fragmentos de tamaño conocidos (marcadores o patrones) que da lugar a una «escalera» con tantos peldaños como fragmentos de tamaño diferente hay. La separación de un número limitado de fragmentos de una muestra procedente, por ejemplo, de la degradación de un plásmido por una enzima de restricción da lugar a una serie de bandas cuyo tamaño se puede calcular mediante comparación con los patrones. A la derecha se representa el resultado de la separación de los fragmentos generados a partir de una mezcla compleja de ADN, como el ADN genómico. No se aprecian bandas de fragmentos nítidos debido a la existencia de solapamientos entre miles de fragmentos de tamaño variable que dan un aspecto de mancha continua o «smear».

y se pone en contacto con la membrana donde van a transferirse los fragmentos. Seguidamente, la membrana se sumerge en una disolución de la sonda radiactiva desnaturalizada, en condiciones que permitan su hibridación con fragmentos de secuencia complementaria. Los fragmentos hibridados se detectan por autorradiografía (exposición de una película de rayos X a la membrana durante el tiempo adecuado y su revelado posterior).

Esta técnica también permite detectar cuáles de las diferentes colonias recombinantes que crecen en una placa de agar poseen un inserto determinado. Para ello, se presiona suavemente un filtro de nitrocelulosa sobre la placa de agar, de modo que algunas células de cada colonia se peguen al filtro, formando una réplica de la placa. La réplica se trata con álcali para romper las células y desnaturalizar el ADN, que queda unido al filtro, y se incuba después con la sonda radiactiva. Por autorradiografía, se obtiene una imagen que permite detectar la posición en la placa de agar de la colonia o colonias de interés (Fig. 23-4).

Las sondas de ADN también pueden utilizarse para detectar un ARN mensajero específico, de secuencia complementaria a la de la sonda, dentro de una población de moléculas de ARNm separadas por electrofóresis. El pro-

ceso, denominado *transferencia Northern*, es similar a la transferencia de Southern y resulta muy útil para detectar cualitativamente la expresión de un gen en una célula o tejido determinados, o comparar cuantitativamente los niveles de ARNm en distintas muestras. Es, por tanto, una herramienta esencial para estudiar el control de la transcripción de muchos genes.

De todo ello se desprende que las sondas génicas son imprescindibles para detectar genes o fragmentos de genes específicos. Una sonda génica puede consistir en un fragmento parcial de un gen, y utilizarse para identificar el gen completo. También puede tratarse de una molécula de ADN similar, pero no idéntica, al gen de interés, como un fragmento del gen procedente de otra especie filogenéticamente relacionada. Cuando no se dispone de una sonda génica, pueden sintetizarse químicamente pequeñas cadenas de oligonucleótidos cuya secuencia sea complementaria de una parte concreta del gen. Ello es posible si se conoce la secuencia de un fragmento peptídico de la proteína codificada por el gen. De acuerdo con el código genético y su degeneración, se sintetiza el conjunto de secuencias degeneradas, una de las cuales corresponde exactamente a la del gen, por lo que hibridará con el mismo.

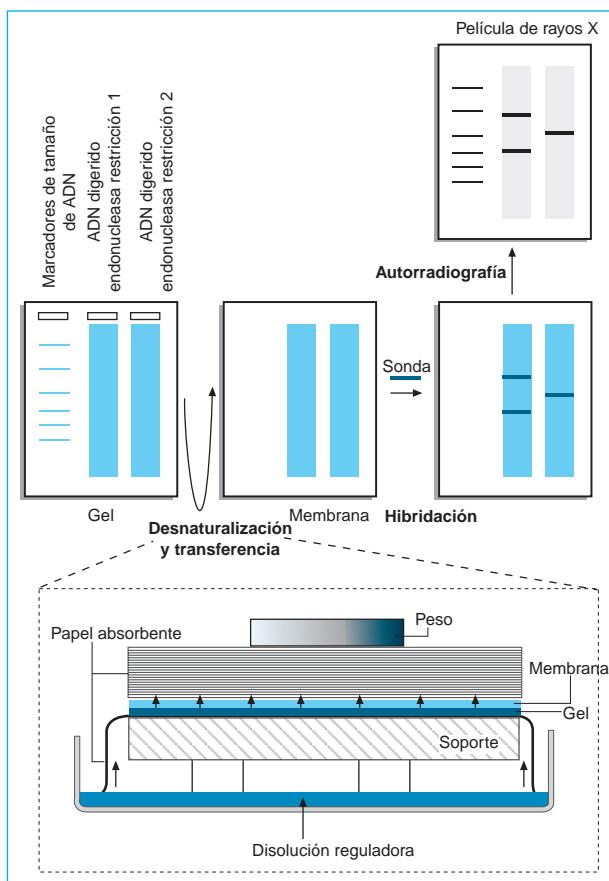
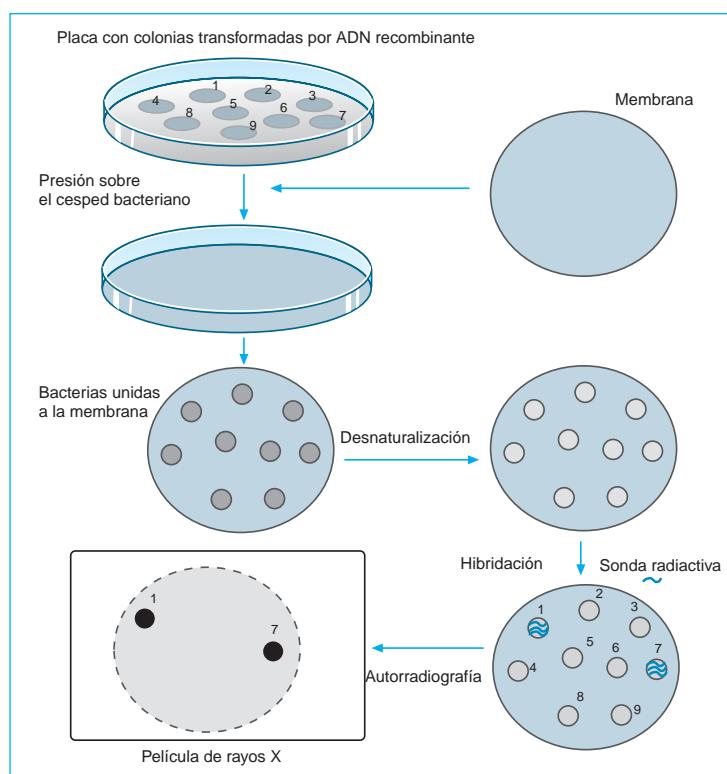


Figura 23-3. Transferencia de Southern. Mediante esta técnica, se transfieren los fragmentos separados sobre el gel de agarosa a una membrana especial de las mismas dimensiones que éste, originando en la misma una «réplica» de la disposición de los fragmentos en el gel inicial. Ello se consigue mediante la elución y arrastre de los fragmentos desde el gel a la membrana, por medio de una disolución reguladora y el uso de papel absorbente para facilitar el flujo de la disolución reguladora (flechas negras de la parte inferior). Tras desnaturalizar los fragmentos (parte superior), éstos quedan fuertemente retenidos a la membrana, posibilitando su incubación en un medio líquido que contiene una sonda concreta que hibridará, de manera específica, con los fragmentos que contengan una secuencia análoga a la de la sonda. La presencia de los fragmentos sobre la membrana se puede detectar en función del tipo de marcaje de la sonda (mediante autorradiografía, como en la figura, si la sonda está marcada con un isótopo radiactivo, generalmente ^{32}P).

Figura 23-4. Detección de colonias transformadas que contienen un inserto concreto. Cuando se transforman bacterias con una mezcla de ADN recombinante, las colonias que crecen en presencia del antibiótico, para el que porta la resistencia el vector plasmídico, suelen contener algún tipo de ADN recombinante. La detección de la colonia o colonias que contienen un determinado inserto se hace por medio de una sonda para ese fragmento. Para ello se hace una réplica de las colonias sobre una membrana, poniendo en contacto ésta sobre la placa que contiene las colonias y presionando ligeramente para que sobre la membrana quede depositada una muestra de cada colonia y en la misma posición que en la placa. Tras lisar las células, desnaturalizar y fijar el ADN sobre la membrana, se incuba con la sonda en cuestión y se detecta la sonda fijada al ADN mediante autorradiografía. La posición de las manchas radiactivas sobre la membrana (en el ejemplo 1 y 7) nos indica las colonias de la placa original que contienen el ADN recombinante con el inserto de interés. El cultivo de bacterias de estas colonias en medio líquido permite amplificarlas y, con ellas, el ADN recombinante.



23.3.3 Obtención del ADN recombinante

Como ya se ha dicho, los fragmentos del ADN que se quiere clonar deben unirse de forma covalente, *in vitro*, a un vector mediante una *ADN ligasa* (Fig. 23-5a). La reacción de unión es más sencilla si los fragmentos de ADN de diferente origen, obtenidos por digestión con endonucleasas de restricción apropiadas, presentan extremos cohesivos compatibles que formen apareamientos específicos. La *ADN ligasa* también es capaz de unir extremos romos, aunque con menor eficacia.

En determinados casos, pueden transformarse extremos romos en cohesivos, mediante la adición de colas homopoliméricas complementarias en los extremos de los fragmentos a unir, catalizada por la enzima *transferasa terminal* (Fig. 23-5b). También pueden crearse extremos cohesivos ligando, a fragmentos de extremos romos, pequeños segmentos de ADN bícatenario (*conectores*) que posean secuencias de restricción generadoras de extremos cohesivos, y tratando los productos obtenidos con la endonucleasa apropiada (Fig. 23-5c).

23.4 VECTORES Y GENOTECAS

23.4.1 Vectores

Para la clonación de un gen en bacterias se utilizan diferentes tipos de vectores, fundamentalmente plásmidos y fagos, o derivados de éstos, como los *cósmidos*. Posteriormente se han desarrollado otros vectores, como los BAC y los YAC (*cromosomas artificiales de bacterias* y *cromosomas artificiales de levaduras*, respectivamente), adecuados para clonar fragmentos muy grandes de ADN.

Los *plásmidos* son moléculas pequeñas de ADN circular que se replican en las bacterias con independencia del cromosoma bacteriano. Un plásmido sin modificar, o recombinado con pequeños insertos, puede introducirse en una bacteria mediante distintas técnicas de transformación, en las que sólo una pequeña fracción de las bacterias capta el ADN plasmídico.

Para ser útil como vector, un plásmido debe reunir varias características, entre las que se incluyen: a) un tamaño adecuado que permita la incorporación del inserto y su entrada en la célula; b) un origen de replicación reconocido por la bacteria hospedadora, que permita al plásmido replicarse en dicha bacteria y transmitirse a su descendencia; c) marcadores para la selección de las bacterias que lo captén (como los genes de resistencia a antibióticos comentados anteriormente), y d) una o varias secuencias diana para endonucleasas de restricción, que al cortar y linearizar el plásmido generen extremos para ligar el inserto (Fig. 23-6).

Actualmente existen diversos plásmidos disponibles, que permiten la clonación de insertos de hasta 15 kb. Algunos

poseen, además de las características anteriores, señales de transcripción y traducción que dirigen la expresión de la proteína codificada por el inserto. Se trata entonces de *vectores de expresión*. Otros contienen, además del origen de replicación reconocido por la bacteria hospedadora, elementos para su multiplicación en células de eucariotas, y pueden utilizarse indistintamente en bacterias o en eucariotas, o transferirse de un tipo a otro de huésped.

Para clonar fragmentos mayores (hasta unas 25 kb), se utilizan vectores derivados del fago λ . El ADN del fago λ se empaqueta con proteínas virales y forma partículas infecciosas que introducen su ADN en *E. coli* y se multiplican dentro de la bacteria. Sólo dos tercios, aproximadamente, del genoma del fago son esenciales para su multiplicación. El otro tercio puede eliminarse y reemplazarse por ADN foráneo, siempre que éste tenga un tamaño que permita al ADN recombinante empaquetarse *in vitro* en presencia de extractos con las proteínas necesarias para generar partículas virales infecciosas. El tratamiento de un césped bacteriano, creciendo sobre una placa de agar, con partículas infecciosas producirá «calvas» formadas por la lisis de las bacterias infectadas. La selección de las calvas de lisis procedentes de un determinado fago recombinante puede realizarse con una sonda adecuada, tal y como ya hemos descrito.

Los *cósmidos* son vectores recombinantes que reúnen características de plásmidos (origen de replicación, marcadores y secuencias de restricción) y del fago λ (secuencia *cos* necesaria para el empaquetamiento). Permiten clonar fragmentos largos de ADN (hasta 45 kb). El ADN recombinante puede introducirse de forma eficaz (como un fago) en la célula bacteriana, y multiplicarse y seleccionarse como un plásmido.

Algunas aplicaciones específicas cada vez más frecuentes requieren la clonación de fragmentos de ADN mucho mayores que los compatibles con los vectores tradicionales. Por ello se han desarrollado dos nuevos tipos de vectores, los BAC y los YAC. Los YAC son los de mayor capacidad, y aceptan insertos de más de 1000 kb. Se emplean utilizando como huésped *Saccharomyces cerevisiae*, la levadura común de panadería. Contienen centrómeros y telómeros que les permiten replicarse en la levadura como un cromosoma normal.

23.4.2 Insertos y genotecas

Los *insertos* pueden ser esencialmente de dos tipos: ADNc o fragmentos de ADN genómico. Los ADNc se obtienen a partir del ARNm mediante un conjunto de enzimas específicas: *transcriptasa inversa*, *ARNasa H* y *ADN polimerasa* (Fig. 23-7).

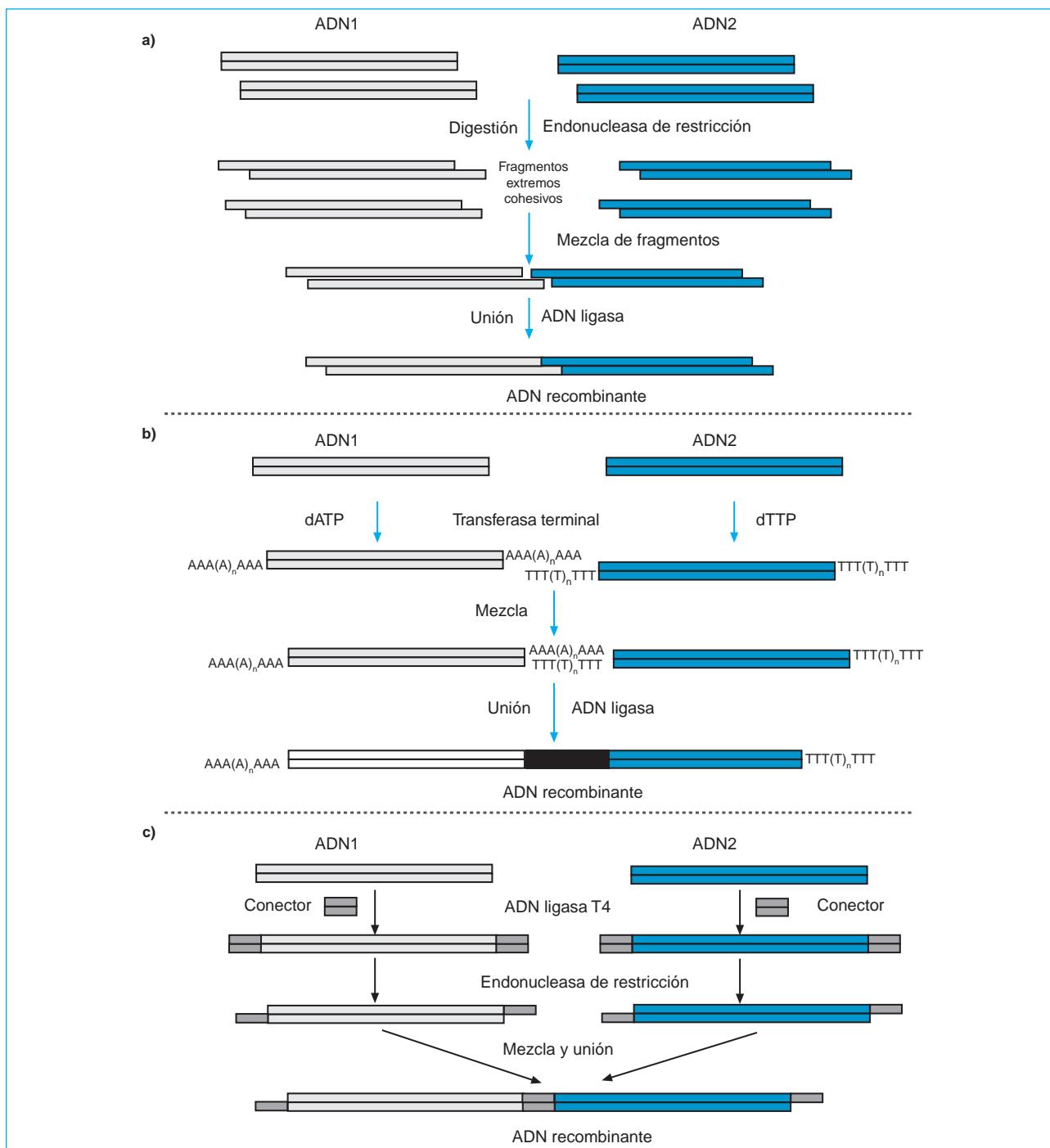


Figura 23-5. Estrategias para la unión de moléculas de ADN para formar ADN recombinante. a) Si las moléculas de ADN a «recombinar» se digieren independientemente con una endonucleasa de restricción que genere fragmentos monocatenarios cohesivos y se mezclan los fragmentos, éstos interactuarán mediante formación de enlaces por puentes de hidrógeno entre las bases complementarias de los extremos, pudiendo unirse después de forma covalente mediante tratamiento con ADN ligasa. b) A los dos tipos de ADN (ADN1 y ADN2) se le pueden crear extremos homopoliméricos monocatenarios mediante la transferasa terminal: extremo de poli(A) al ADN1 incubando con dATP y de poli(T) al ADN2 incubando con dTTP; tras mezclar las dos poblaciones, se consigue la unión covalente de los fragmentos que han interactuado por medio de la ADN ligasa. c) A los dos tipos de ADN se les puede añadir, por medio de la ADN ligasa de T4, un pequeño ADN conector que contiene la secuencia diana de una endonucleasa de restricción. Tras digerir con dicha endonucleasa los fragmentos con extremos cohesivos se unirán por medio de la ADN ligasa.

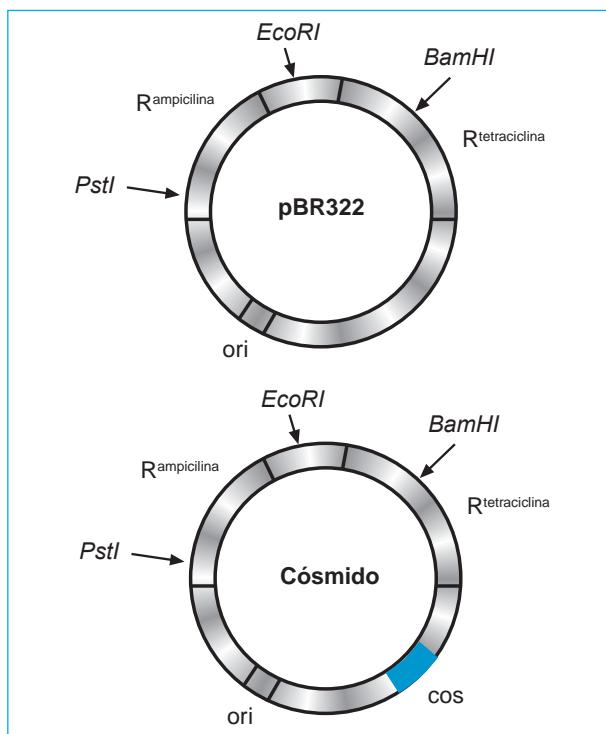


Figura 23-6. Ejemplos de vectores plasmídicos utilizados para generar ADN recombinante. El plásmido pBR322 contiene tres elementos fundamentales para su función: un origen de replicación que permite la replicación del plásmido y, por tanto, del ADN recombinante generado en el interior de una bacteria; algún gen o genes que confieren resistencia para algún antibiótico (ampicilina y tetraciclina, en este caso) y dianas de restricción (tres en este caso: PstI, EcoRI y Bam HI) para linearizar el plásmido y poder unirlo al inserto. Un cósmido es un plásmido que contiene elementos de vectores virales como las secuencias cos del fago λ , que permiten empaquetar el ADN recombinante dentro de partículas virales.

El ADNc procedente de genes eucarióticos contiene sólo la secuencia de los exones, incluyendo el marco de lectura que codifica la proteína correspondiente, y es muy útil cuando se clona el gen para estudiar la función o la secuencia de dicha proteína.

Sin embargo, en otros muchos casos es conveniente clonar fragmentos de ADN derivados del genoma de un organismo determinado. El ADN genómico se corta con una o varias endonucleasas de restricción, dando lugar a una colección de fragmentos de tamaño apropiado. Tras su unión al vector y la transformación de bacterias huéspedes, se obtiene una población de bacterias transformadas en la que cada componente porta una molécula de ADN recombinante. El genoma de partida estará prácticamente represen-

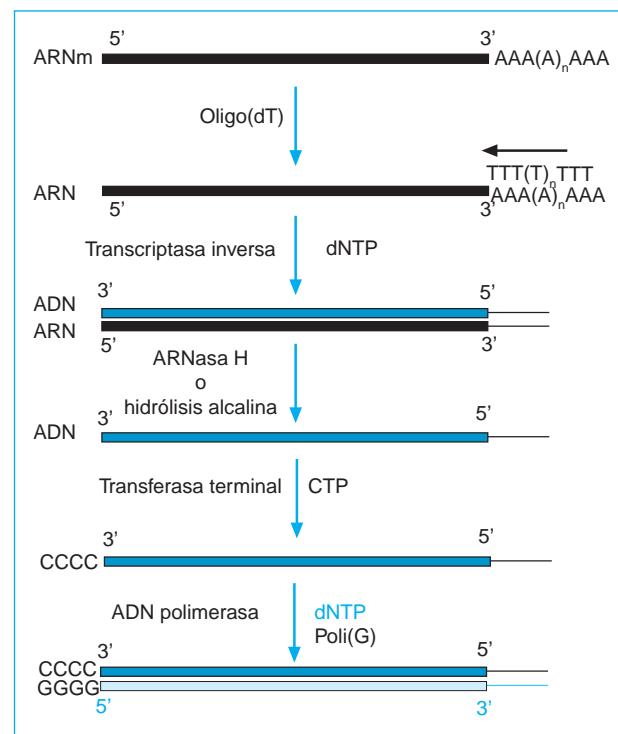


Figura 23-7. Síntesis enzimática de ADN complementario. A partir de moléculas de ARNm eucariótico se puede generar ADN bicatenario con una cadena similar a la del ARNm unida a su complementaria (ADNc). En un primer paso, utilizando oligo(dT) (que se aparea con la cola de poli(A) del ARNm) como cebador, la enzima transcriptasa inversa es capaz de crear una cadena de ADN complementaria al ARNm. Tras degradar la cadena de ARN del híbrido ADN/ARN, por medio de RNAsa H o hidrólisis alcalina, se genera sobre el extremo 3' de la monohebra de ADN una cola de poli(C) mediante incubación con la transferasa terminal y dCTP. Tras incubar con oligo(G) y ADN polimerasa, se generará una cadena de ADN complementaria al anterior, obteniéndose, por tanto, el ADNc.

tado en dicha población, denominada biblioteca genómica o *genoteca*.

A partir de esta genoteca, se podrá seleccionar un clón que posea un ADN recombinante específico, y cultivarlo posteriormente para amplificarlo. Cuando el material inicial son los ADNc sintetizados, a partir de los ARNm correspondientes a los genes que se expresan en el organismo de partida, se obtiene una *genoteca de ADNc*, con menos componentes que las *genotecas genómicas*. El ADNc de un gen determinado puede utilizarse como sonda para seleccionar las secuencias genómicas correspondientes en una genoteca genómica. Los clones genómicos resultantes serán mayores que el ADNc, al incluir las secuencias de los exones e intrones.

23.4.3 Células hospedadoras

En la mayor parte de los casos, las células hospedadoras son bacterias seleccionadas para presentar las mejores propiedades de captación, selección y multiplicación de ADN recombinante. Entre los huéspedes eucarióticos, las levaduras ocupan un lugar importante por ser organismos unicelulares, y fáciles de manejar y multiplicar a gran escala en el laboratorio. También se realizan clonaciones en células vegetales, pero las células animales son las de mayor interés en ciencias biomédicas.

Existen diversos métodos de *transfección* de células animales en cultivo, como la coprecipitación del ADN recombinante con fosfato cálcico, la permeabilización de las células con impulsos eléctricos (*electroporación*), el uso de compuestos orgánicos (p. ej. lipofectamina), la utilización de virus eucarióticos como vectores, y la microinyección de ADN en el núcleo celular. No obstante, la introducción de ADN es más delicada en células de eucariotas que en procariontas. Su cultivo es más complejo, pudiéndose manejar en número muy inferior al del caso de las bacterias. Además, la replicación del vector con independencia de los cromosomas de la célula hospedadora es problemática, por lo que suele ser necesario utilizar vectores que permitan la integración estable del ADN foráneo en los cromosomas del huésped.

La integración al azar del ADN recombinante en el genoma de la célula hospedadora puede resultar perniciosa para dicha célula por alterar el funcionamiento normal de genes esenciales. A pesar de ello, la introducción y expresión de genes en células eucarióticas es cada vez más frecuente e, incluso, se han desarrollado vectores de expresión que pueden multiplicarse transitoriamente con independencia de los cromosomas del huésped (replicación episomal), o integrarse de forma estable en los mismos para dirigir la expresión permanente de la proteína codificada por el inserto.

23.5 SECUENCIACIÓN DE ADN

La determinación de la secuencia de nucleótidos del ADN, o *secuenciación*, es una de las técnicas más importantes de análisis del genoma. La secuenciación permite, entre otras cosas:

- Deducir la secuencia de aminoácidos de las proteínas codificadas por los genes y, en algunos casos, su posible función por comparación con la secuencia de otras proteínas de función conocida.
- Identificar mecanismos de regulación de los genes, por localización de secuencias diana para factores de transcripción.

- Determinar la causa molecular de enfermedades hereditarias, al identificar mutaciones por comparación de la secuencia del gen implicado, procedente de pacientes, con la del gen normal.
- Identificar mutaciones esporádicas en pacientes con enfermedades genéticas adquiridas, como la mayor parte de los cánceres.
- Elaborar métodos para la detección rápida de individuos portadores de un gen mutado, o de un virus.

Existen dos técnicas de secuenciación que se han desarrollado en paralelo y simultáneamente. La *técnica de Maxam-Gilbert* se basa en la degradación química selectiva del ADN, y en la separación electroforética y el análisis del tamaño de los fragmentos obtenidos. Aunque igualmente eficaz, esta técnica se utiliza mucho menos que la *técnica de Sanger*, denominada de terminación de cadena, y basada en las propiedades de la ADN polimerasa. Esta enzima copia un ADN monocatenario, a partir de un cebador, añadiendo el desoxirribonucleótido entrante al hidroxilo del anillo de desoxirribosa del extremo 3' de la cadena creciente (véase el Cap. 19). La enzima reconoce como sustratos los derivados didesoxi de los nucleótidos, pero cuando incorpora uno de ellos a una cadena creciente, la elongación resulta imposible, porque el nucleótido en el extremo 3' no posee el grupo hidroxilo para atacar a un nuevo nucleótido entrante. Así, se produce una terminación de la síntesis en la posición correspondiente a la entrada del derivado didesoxi (Fig. 23-8).

En la técnica de Sanger, se producen cuatro reacciones independientes. Cada una incluye el ADN molde, el cebador, los cuatro desoxirribonucleótidos (uno de ellos marcado radiactivamente con ^{32}P o ^{35}S) y una determinada cantidad de uno de los derivados didesoxi. Este derivado compite con el nucleótido correspondiente, de forma que cuando debe ser añadido por la polimerasa, una proporción determinada de las cadenas crecientes incorpora el análogo didesoxi y termina su elongación. Se producen fragmentos cuyo tamaño corresponde a la distancia del sitio de comienzo de la síntesis hasta la posición de terminación, y que indican la presencia del nucleótido didesoxi utilizado en esa posición. Los fragmentos obtenidos se separan por electroforesis en función de su tamaño, en geles de poliacrilamida de alta resolución, y se detectan por autorradiografía.

La escalera de secuenciación resultante, leída en sentido ascendente (de menor a mayor tamaño), corresponde a la secuencia complementaria de la de la hebra inicial, en sentido 5' → 3', a partir de la cual se deducen las de la hebra problema y la proteína que codifica. La técnica de Sanger se ha automatizado, recurriendo a nucleótidos modificados que se detectan por su fluorescencia. Esta variante se ha aplicado a la secuenciación total del genoma humano (véase el Cap. 24).

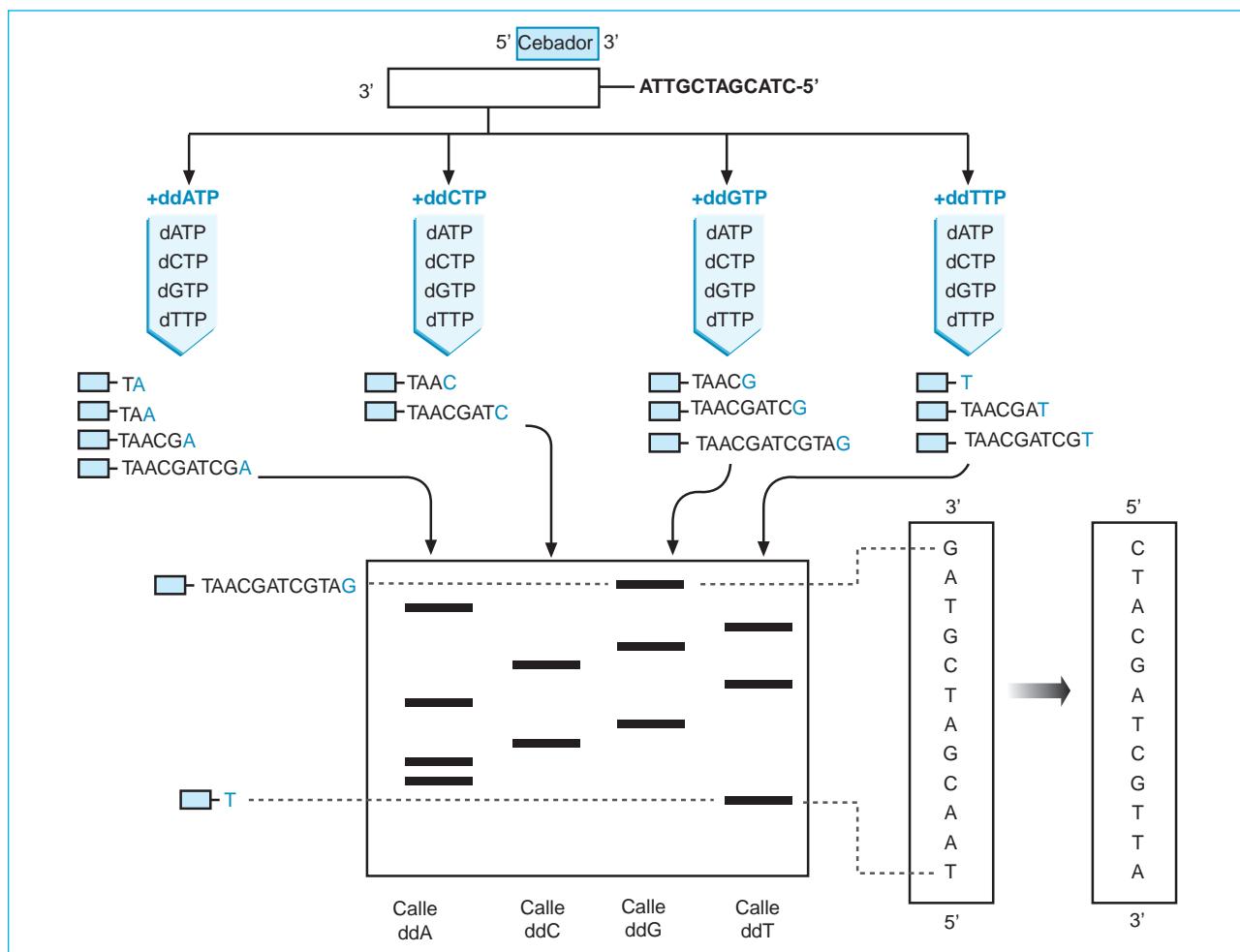


Figura 23-8. Secuenciación de ADN mediante la técnica de Sanger. La cadena de ADN a secuenciar (un inserto, por ejemplo) debe estar unida a un fragmento de secuencia conocida (generalmente, un plásmido), representado por el rectángulo blanco en el esquema. Tras incubar con un cebador sintético complementario al extremo del plásmido, se podrá extender la cadena mediante incubación con la ADN polimerasa y los cuatro de desoxinucleósidos trifosfato (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), que incorporan un isótopo radiactivo para marcar la cadena sintetizada. Se hacen cuatro incubados de este tipo, pero en cada uno se añade uno de los cuatro didesoxinucleósidos trifosfato (ddATP, ddCTP, ddGTP y ddTTP) que competirán con el dNTP correspondiente para incorporarse a la cadena creciente, pero que si la hacen, provocarán la terminación prematura de la cadena. En cada incubado se formarán todas las combinaciones de cadenas de ADN que acaban con su ddNTP. En el conjunto de los cuatro incubados estarán presentes todos los fragmentos posibles de la secuencia que se diferencian en un nucleótido en su longitud. La longitud de los fragmentos producidos en cada incubado se determina por electroforesis en geles apropiados. La ordenación de las calles a las que corresponden los fragmentos ordenados por su tamaño decreciente, nos proporcionará la secuencia de la nueva cadena desde su extremo 3' al 5', a partir de la cual se puede deducir la secuencia (complementaria) desconocida de la cadena de ADN que ha actuado como molde.

23.6 REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

La PCR es una técnica enzimática de amplificación *in vitro* del ADN, extraordinariamente versátil por su sensibilidad, especificidad y sencillez. En teoría, permite amplificar

cualquier fragmento de ADN cuya secuencia se conozca parcialmente, hasta el punto de obtener material suficiente para una aplicación, partiendo de una única copia del ADN diana. Ello permite analizar muestras tan reducidas como un bulbo piloso, algunas células mucosas obtenidas en un lavado bucal, una gota de sangre o, incluso, restos fósiles.

23.6.1 Principio teórico

La PCR se basa en el conocimiento de la maquinaria enzimática de replicación del ADN. Un ADN monocatenario dirige la síntesis de la hebra complementaria si, además de un pH y una fuerza iónica adecuados, el medio contiene: a) un cebador que hibride en el extremo 3' de la monohebra, b)

una ADN polimerasa, c) los cuatro dioxosinucleósidos trifosfato, y d) iones Mg^{2+} que actúen como cofactor de la polimerasa. En la PCR, se utilizan como cebadores dos *oligonucleótidos*, uno para cada una de las hebras del ADN bicanterio diana, que delimitan la zona a amplificar (Fig. 23-9). Los cebadores se usan en un gran exceso de concentración frente al ADN diana.

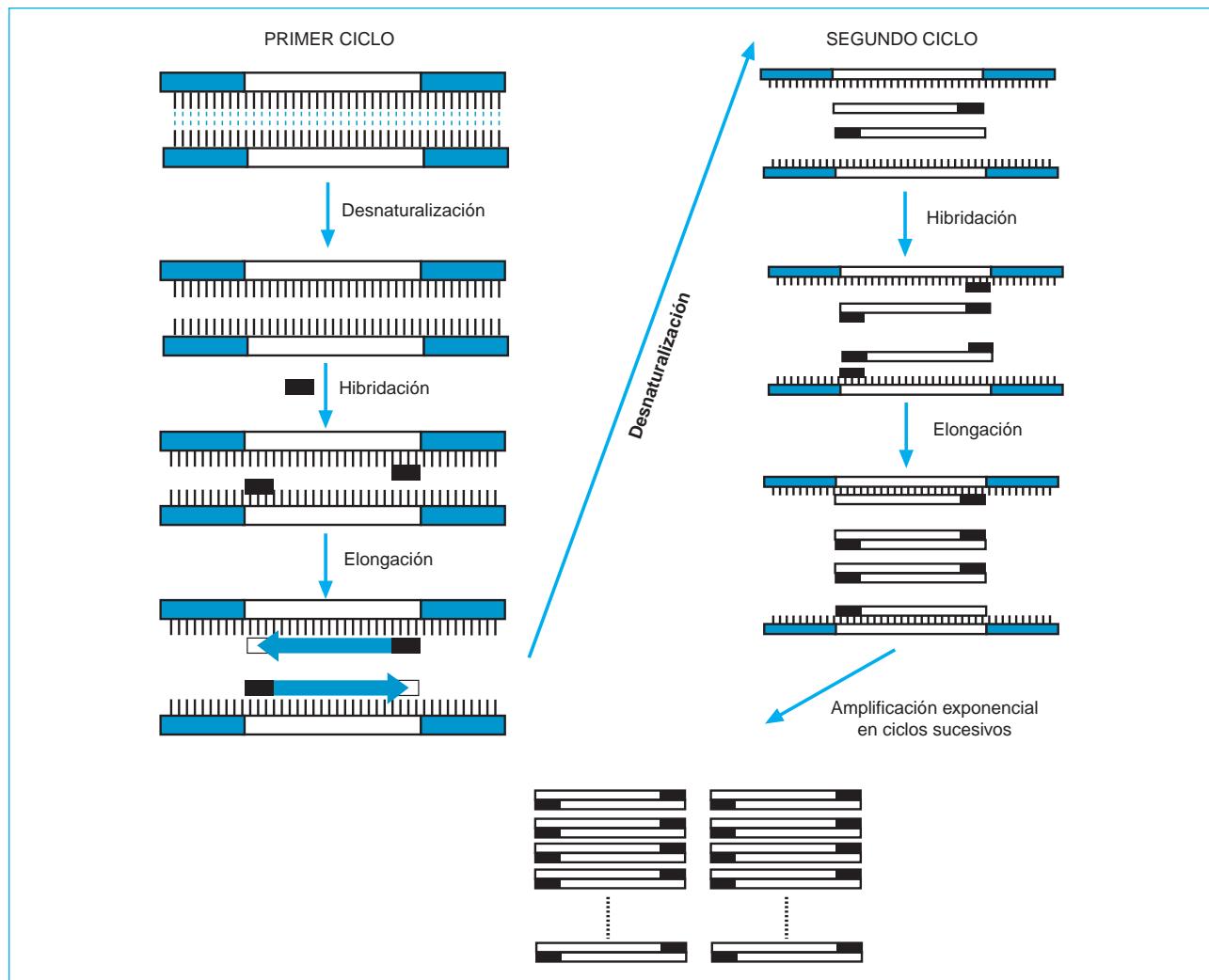


Figura 23-9. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La amplificación de un fragmento de ADN bicanterio (rectángulos blancos de la izquierda) requiere conocer las secuencias de parte de sus extremos. A partir de éstas se pueden generar por síntesis oligonucleótidos (de alrededor de 20 nucleótidos de longitud) con secuencias complementarias a los extremos de cada una de las cadenas que podrán actuar como cebadores en la síntesis del ADN (recuadros negros). El proceso consta de una serie de ciclos repetidos: en el primero (izquierda) se calienta la muestra para separar las cadenas de ADN (desnaturalización) y, a continuación, se reduce la temperatura para conseguir la hibridación de cada cadena con sus cebadores correspondientes. A partir de aquí, una ADN polimerasa termorresistente es capaz de elongar las cadenas de los cebadores utilizando las cadenas de ADN monocatenario como moldes, consiguiéndose la duplicación del ADN. En un segundo ciclo se vuelven a repetir las etapas de desnaturalización, hibridación y síntesis, duplicando de nuevo la secuencia «acotada» del ADN. Por medio de la repetición de los ciclos (hasta unos 30) se va produciendo una amplificación exponencial de las moléculas de ADN. Nótese que al final, las moléculas de ADN de la mezcla que conservarán las cadenas iniciales que sobrepasan la zona de acotación (segmentos azules) serán minoritarias, por lo que no han sido representadas.

La reacción consta de tres pasos, repetidos cíclicamente:

- Desnaturalización, a temperaturas del orden de 95 °C, que separa las dos hebras del ADN diana.
- Hibridación de los cebadores, reduciendo la temperatura hasta que se formen híbridos estables de cada cebador con su diana.
- Elongación, a temperatura compatible con la acción de la polimerasa, que cataliza la formación de una monohebra complementaria de la diana, en sentido 5' → 3', a partir del cebador. Como consecuencia, aparecen dos dobles hebras por cada molécula diana inicial. Se emplean polimerasas termoestables, obtenidas de microorganismos termófilos, que resisten las elevadas temperaturas de la fase de desnaturализación.

Los tres pasos descritos constituyen un ciclo. Una PCR típica suele constar de unos 30 ciclos consecutivos, en los que el número de copias del ADN diana aumenta exponencialmente. Aunque los últimos ciclos suelen tener un rendimiento menor que los primeros, las cantidades de ADN obtenido permiten normalmente la clonación del producto, o su análisis directo por electroforesis o secuenciación.

23.6.2 Aplicaciones biomédicas de la PCR

La extraordinaria sensibilidad de la PCR unida a su relativa sencillez ha impulsado su aplicación a numerosos problemas biomédicos. En buena parte de estas aplicaciones, la PCR se emplea acoplada a la síntesis de ADNc a partir del ARN mensajero. Tras la obtención del ARNm presente en un determinado tejido, se sintetiza el ADNc mediante la transcriptasa inversa. El ADNc se utiliza como diana en una PCR convencional, empleando cebadores específicos para el gen que se quiera estudiar. La presencia de un producto de amplificación indica que el ARNm diana estaba presente en la muestra inicial y, por tanto, que el tejido de partida expresa el gen correspondiente. Esta variante, denominada *RT-PCR*, permite detectar cantidades mínimas de mensajeros y es la técnica más sensible de detección de la expresión de un gen. Su sensibilidad es suficiente para poner de manifiesto la presencia de algunas células tumorales en el torrente circulatorio, durante el proceso de formación de metástasis. En este caso, se analiza por RT-PCR la presencia en la sangre de los ARNm correspondientes a genes que se expresen en el tejido de procedencia del tumor, pero que no se expresen por las células sanguíneas. Un resultado negativo indica que la sangre no contiene células tumorales en tránsito.

Recuadro 23-1.

APLICACIONES DE LA PCR A LA DETECCIÓN DE MUTACIONES

La detección y caracterización de mutaciones permite confirmar el diagnóstico de enfermedades genéticas hereditarias, identificar portadores asintomáticos y realizar un diagnóstico prenatal en familias afectadas. En enfermedades genéticas adquiridas, como el cáncer, la identificación de la lesión molecular ayuda a predecir la susceptibilidad del tumor a la quimioterapia o la radioterapia y a optimizar las pautas terapéuticas.

El análisis más preciso de la estructura de un gen se obtiene mediante su secuenciación, que es la técnica de elección para identificar mutaciones de naturaleza desconocida. Pero la secuenciación masiva de genes en posibles portadores de mutaciones sólo ha podido abordarse gracias a la PCR, que permite amplificar el gen sospechoso del posible

portador a partir de sangre periférica, o de una biopsia de tejido. Normalmente se obtiene suficiente cantidad del producto de amplificación para proceder directamente a su secuenciación, sin necesidad de clonar el gen. Ello supone un ahorro importante de recursos y trabajo.

Una vez que la mutación se ha caracterizado por secuenciación, existen métodos más rápidos, sencillos y baratos para detectar portadores. Un ejemplo es el uso de *oligonucleótidos específicos de alelo* (OEA) en ensayos de PCR. Puesto que la estructura del gen normal y la del mutado deben ser diferentes, al menos en una base, pueden diseñarse oligonucleótidos que sean perfectamente complementarios para el gen normal, pero no para el mutado, o viceversa. Estos oligonucleótidos, los OEA, se emplean en condiciones en las que la imperfecta complejidad para una de las formas del gen hace que la hibridación del cebador

y la diana no se produzca de forma estable, o que la polimerasa sea incapaz de elongar el cebador imperfectamente unido a la diana, de manera que al final de la PCR no aparece un producto de amplificación. Como cada individuo posee dos alelos para la mayor parte de los genes, una PCR con OEA para el gen normal debería ser positiva para un homocigoto sano, pero negativa cuando los OEA correspondieran al gen mutado. En un homocigoto para la mutación estudiada, la situación sería la inversa. Un heterocigoto con uno de los alelos mutados y el otro normal se detecta por la aparición de productos de amplificación de los dos tipos de OEA. La resolución de la técnica es suficiente para detectar mutaciones puntuales, en las que el defecto genético sea tan sutil como el cambio de una única base. Además, el tiempo necesario para realizar el análisis completo, desde que se obtiene la muestra de sangre, es menor a un día.

La presencia de un virus en la sangre puede detectarse aislando ADN (o ARN) total a partir de sangre periférica y sometiéndolo a PCR (o RT-PCR) con cebadores específicos para secuencias de ADN viral. La detección de un producto de amplificación indica la existencia del virus. Puesto que la cantidad de producto depende teóricamente de la de ADN diana, en determinadas condiciones es incluso posible cuantificar la carga viral. Esta técnica se emplea en pacientes con SIDA y permite un seguimiento muy preciso de la evolución de la enfermedad.

La PCR se ha aplicado también a la identificación y detección de mutaciones heredadas o adquiridas. En muchos casos, la mutación se identifica por amplificación del gen de interés y secuenciación directa del producto de la PCR. Una vez caracterizada la mutación, es sencillo detectarla rápidamente en cualquier muestra de ADN, utilizando cebadores alelo-específicos (Recuadro 23-1).

Existen otras aplicaciones de la PCR, entre las que cabe destacar las relacionadas con la medicina legal y forense, en las que la cantidad de muestra disponible para el análisis es, frecuentemente, muy reducida.

RESUMEN

- El desarrollo de conceptos y técnicas dentro de la Ingeniería Genética ha permitido una aproximación molecular al estudio de muchos procesos biológicos relacionados con la estructura y función de los genes, posibilitando su aislamiento, el estudio de sus características y el manejo de los mismos.
- Las técnicas de clonación posibilitan la multiplicación de un gen o secuencia de ADN determinada, obteniendo cantidades suficientes para su análisis.
- En la constitución de la Ingeniería Genética ha tenido un papel muy importante el aislamiento y la caracterización de una serie de enzimas degradativas (*endonucleasas de restricción*), biosintéticas (*ADN polimerasas, ARN polimerasas, ADN ligasas, transcriptasa inversa*, etc.) y de modificación de ácidos nucleicos (*fosfatasas, polinucleótido quinasas*, etc.), que junto a los métodos químicos de síntesis de oligonucleótidos ha permitido el desarrollo de una tecnología muy poderosa para el análisis de los genes.
- La digestión de una muestra de ADN con *endonucleasas de restricción* seguida de electroforesis en geles de agarosa permite obtener una colección de fragmentos de ADN ordenados de acuerdo con su tamaño.
- La técnica de Southern permite transferir e inmovilizar los fragmentos generados desde el gel a una membrana, donde se puede determinar la presencia de un determinado gen o secuencia mediante hibridación con una molécula de ADN o ARN marcada que se utiliza como sonda.
- La unión de un fragmento determinado de ADN (inserto) a otra molécula de ADN con capacidad de autorreplicación (vector) permite obtener un ADN recombinante que introducido en células hospedadoras, puede dar lugar a la amplificación del ADN recombinante.
- El inserto puede proceder de la fragmentación de una muestra de ADN genómico o ser un ADNc obtenido del ARNm mediante la *transcriptasa inversa*.
- Los vectores para clonar ADN pueden ser plásmidos, virus, o una combinación de ambos (para fragmentos pequeños), y cromosomas artificiales de bacterias o de levaduras (para fragmentos mayores).
- La clonación en bacterias de todos los fragmentos derivados de una población de ARNm (ADNc) o de un ADN genómico da lugar a la formación de una genoteca, o colección de bacterias que en su conjunto poseen los clones de todos los fragmentos.
- El método automatizado de Sanger permite determinar la secuencia de un ácido nucleico de forma rápida y precisa.
- La técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) permite la amplificación de un fragmento de ADN con gran sensibilidad, precisión y sencillez.
- La PCR es de gran utilidad en biomedicina, ya que permite identificar y detectar mutaciones, y en genética forense ya que sirve para establecer polimorfismos de ADN.

EVALUACIÓN

1. (A). Enzimas utilizadas en la amplificación de genes:
- Algunas *endonucleasas de restricción* generan extremos cohesivos.
 - La *ADN polimerasa* utilizada en la PCR debe ser termosensible.
 - La *ADN transferasa terminal* sirve para crear extremos monocatenarios a segmentos romos.
 - La *transcriptasa inversa* genera ARNm a partir de ADNc.
 - Hay más de una respuesta correcta.
2. (B). Vectores de clonación:
- Los plásmidos deben poseer genes de resistencia a antibióticos.
 - Los fagos sirven para clonar insertos de más de 1000 kb.
 - Los cósmidos derivan de plásmidos y elementos del fago λ .
 - Los YAC se utilizan para insertos de unas pocas kb.
- a b c d e
3. (C). Las genotecas de ADNc son más completas que las genotecas de ADN genómico PORQUE en las genotecas de ADNc están presentes, tanto las secuencias correspondientes a exones, como a intrones.
- a b c d e
4. (B). Secuenciación del ADN:
- La técnica de Maxam y Gilbert se basa en la degradación química del ADN.
 - La técnica de Sanger utiliza didesoxinucleósidos trifosfato.
 - En la de Sanger se obtienen fragmentos que difieren en un nucleótido de longitud.
 - La técnica de Sanger se ha automatizado utilizando nucleótidos modificados marcados con grupos fluorescentes.
- a b c d e
5. (A). Análisis de ácidos nucleicos:
- La técnica de Southern sirve para el análisis del ARN.
 - La técnica Northern sirve para el análisis del ADN.
 - La hibridación de la sonda con su diana se puede detectar mediante autoradiografía.
 - La movilidad electroforética es directamente proporcional al tamaño del fragmento.
 - Hay más de una respuesta correcta.
6. (B). En relación con la técnica de PCR:
- Emplea ciclos sucesivos de calentamiento y enfriamiento.
 - Es una técnica no enzimática.
 - Requiere el uso de oligonucleótidos que marcan los límites de la secuencia a amplificar.
 - Es tan sensible que puede funcionar en ausencia de molde.
- a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Blagoev B, Pandey A: Microarrays go live – new prospects for proteomics. *TiBS* 2001; 26: 639-641.
- Hurley JH, Anderson DE, Beach B *et al*: Structural genomics and signaling domains. *TiBS* 2002; 27: 48-53.
- Izquierdo M: *Ingeniería Genética y Transferencia génica*. Eds. Pirámide 2001.
- Lounsbury KM: Crime Scene Investigation: An Exercise in Generating and Analyzing DNA Evidence. *Biochem Mol Biol Educ* 2003; 31: 37-41.
- Mullis KB: Reacción en cadena de la polimerasa. *Inv y C* 1990; junio: 30-44.
- Semple CA, Taylor MS, Ballerens S: The meso-genomic era. *Genome Biology* 2001; 2: 4015.1-4015.5.
- Wayt W: El genoma oculto. *Inv y C* 2004; enero: 6-13.

PROYECTO GENOMA HUMANO Y GENÓMICA

24

24.1 INTRODUCCIÓN

Desde el inicio de la Genética como ciencia a principios del siglo xx y, en especial, desde el descubrimiento por Watson y Crick hace más de 50 años de la estructura química de los genes, una de las aspiraciones de los científicos ha sido la de intentar determinar la estructura, organización y disposición de todos los genes y las secuencias de ADN, que constituyen lo que se conoce como el *genoma* de un organismo vivo y, sobre todo, la del genoma humano. Esta aspiración es hoy día una realidad, ya que se conocen las secuencias de las bases de los genomas de más de un centenar de organismos

procarióticos, así como las de los genomas de diferentes organismos eucarióticos, desde unicelulares como la levadura, hasta el ser humano, pasando por determinados invertebrados, plantas y animales (Tabla 24-1).

Actualmente, al conjunto de técnicas y estrategias encaminadas a la caracterización molecular del genoma o genomas se le conoce con el nombre de *genómica*, diferenciándose entre genómica estructural y genómica funcional, según se trate de caracterizar el mapa físico de un genoma al máximo nivel de detalle (el que corresponde a la secuencia de nucleótidos), o que se quiera precisar la localización y función de los genes pertenecientes a ese genoma, respectiva-

Tabla 24-1. Algunos de los genomas secuenciados

Organismo	Tamaño	Año
Más de 150 bacterias:		
<i>Haemophilus influenzae</i>	1.8 Mb	1995
<i>Mycoplasma genitalium</i>	0.58 Mb	1995
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0.8 Mb	1996
<i>Bacillus subtilis</i>	4.2 Mb	1997
<i>Escherichia coli</i>	4.6 Mb	1997
<i>Helicobacter pylori</i>	1.7 Mb	1997
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	4.4 Mb	1998
<i>Vibrio cholerae</i>	4 Mb	2000
<i>Mycobacterium leprae</i>	3.3 Mb	2001
<i>Yersinia pestis</i>	4.65 Mb	2001
<i>Clostridium perfringens</i>	3 Mb	2002
<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	2.2 Mb	1997
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (levadura)	12 Mb	1996
<i>Plasmodium falciparum</i> (protozoo)	23 Mb	2002
<i>Caenorhabditis elegans</i> (gusano)	97 Mb	1998
<i>Drosophila melanogaster</i> (mosca de la fruta)	120 Mb	2000
<i>Anopheles gambiae</i> (mosquito)	278 Mb	2002
<i>Arabidopsis thaliana</i> (planta)	125 Mb	2000
<i>Orizae sativa</i> (arroz)	446 Mb	2002
<i>Fugu rubripes</i> (pez globo)	400 Mb	2002
<i>Danio rerio</i> (pez cebra)	1.46 Gb	2003
<i>Mus musculus</i> (ratón)	2.5 Gb	2002
<i>Gallus gallus</i> (pollo)	1.05 Gb	2004
<i>Homo sapiens</i> (ser humano)	3 Gb	2001

mente. La genómica funcional está relacionada con la caracterización del *proteoma* o conjunto de proteínas que se expresan a partir de un determinado genoma. Sin embargo, hay que tener en cuenta que para un mismo genoma el patrón de proteínas expresadas va a depender del tipo de célula, estado de desarrollo o fase del ciclo celular y la presencia o ausencia de factores particulares que condicionan la expresión de genes concretos. Relacionado con el proteoma se encuentra, a su vez, el *transcriptoma* o conjunto de moléculas de ARN existentes en una célula bajo unas condiciones específicas determinadas, aunque éste incluye a todas las moléculas de ARN existentes procedentes de la transcripción del ADN y no sólo a las codificadoras de proteínas, si bien se estima que estas últimas van a ser mayoritarias.

El progreso en el conocimiento de los genomas se ha ido produciendo a lo largo del tiempo a través de la construcción de *mapas genéticos* que han ido asignando, de manera aproximada e indirecta, la localización de genes, marcadores o secuencias concretas a diferentes regiones de un cromosoma o cromosomas de una determinada especie; de la elaboración de *mapas físicos*, que han localizado marcadores o secuencias concretas de una manera directa en los cromosomas, estableciendo la distancia física (en unidades de pares de bases) entre unos marcadores y otros (cuando los marcadores son las dianas de las enzimas de restricción se habla de *mapas de restricción*) y, finalmente, de los *mapas genómicos*, que han establecido la secuencia nucleotídica completa del ADN de un determinado genoma.

El gran logro de la caracterización de las secuencias de los diferentes genomas descifrados hasta la fecha ha estado relacionado muy directamente con el desarrollo, hace más de 20 años, de métodos de secuenciación, tanto manuales, como automáticos del ADN (véase el Cap. 23), y con la aplicación posterior de la robótica y de métodos bioinformáticos que han permitido, por una parte, secuenciar de manera rápida millones de moléculas de ADN en diferentes centros de investigación (ya existe la capacidad para secuenciar mil nucleótidos por segundo las 24 horas del día) y, por otra, ordenar la información obtenida y hacerla accesible a la comunidad científica, a través de la creación de bancos de datos donde se almacenan las secuencias nucleotídicas caracterizadas.

24.2 ESTRATEGIAS DE SECUENCIACIÓN DE GENOMAS COMPLEJOS

La secuenciación de los genomas complejos de millones de pares de bases ha ido precedida de la secuenciación de moléculas de ADN más sencillas, como las de diferentes virus (con genomas de unos pocos miles de bases de longitud) o la

del ADNmt humano (~16 kb). También, a partir de poblaciones de ARNm de eucariotas que poseen cola de poli(A), y por medio de la *transcriptasa inversa* y cebadores de oli(dT), se pudieron obtener *in vitro* moléculas de *ADN copia o complementario* (ADNc) que, clonadas en vectores apropiados, suministraron el material de partida para secuenciar y conocer parcial o totalmente las secuencias de ADN expresadas en un determinado tipo de célula. En muchos casos, de los diferentes clones de ADNc producidos sólo se secuenció parte de los extremos 3' o 5', obteniéndose las denominadas «etiquetas de secuencias expresadas», o EST. Estas secuencias cortas, y otras similares obtenidas de forma arbitraria a partir de ADN genómico, denominadas «sitios de secuencia marcada», o STS, han sido y son utilizadas como marcadores en la elaboración de mapas físicos.

La secuenciación de genomas complejos requiere la fragmentación de las grandes moléculas de ADN en poblaciones de fragmentos más pequeños que, tras su clonación, puedan ser secuenciados directamente o subfragmentados para su posterior clonación y secuenciación.

Una aproximación experimental para la secuenciación de genomas es la denominada *secuenciación shotgun* (tiro de pistola o «perdigonada») que consiste en la escisión de manera aleatoria, del genoma completo en una amplia colección de fragmentos secuenciables, seguida de la determinación del orden o alineamiento de los diferentes fragmentos, para lo cual es necesario clasificar la población de los fragmentos secuenciados en *cóntigos*, considerando como tales a los fragmentos que se solapan parcialmente (Fig. 24-1a). Esta estrategia funciona bien para secuenciar determinados genomas, pero no resulta apropiada para secuenciar genomas en los que puedan existir muchas secuencias repetidas. La *secuenciación jerárquica* consiste en la separación del ADN nuclear de los diferentes cromosomas, seguida de la fragmentación de cada uno de éstos en una colección de fragmentos grandes, de entre 100 y 200 kb, que se pueden clonar en cromosomas artificiales de bacterias (BAC). Los clones solapantes resultantes se someten a *shotgun*, lo que genera fragmentos menores (~2 kb) fácilmente secuenciables. A partir de los cóntigos se deduce la secuencia de cada BAC, y de la unión y ordenación de todos los BAC se puede establecer la secuencia completa del genoma (Fig. 24-1b).

24.3 PROYECTO GENOMA HUMANO

A principios del año 2001, como resultado de la actividad de miles de científicos en todo el mundo, se publicaron dos borradores de la secuencia del genoma humano. Uno de ellos fue aportado por el Consorcio Internacional de la Secuenciación del Genoma Humano, integrado por grupos

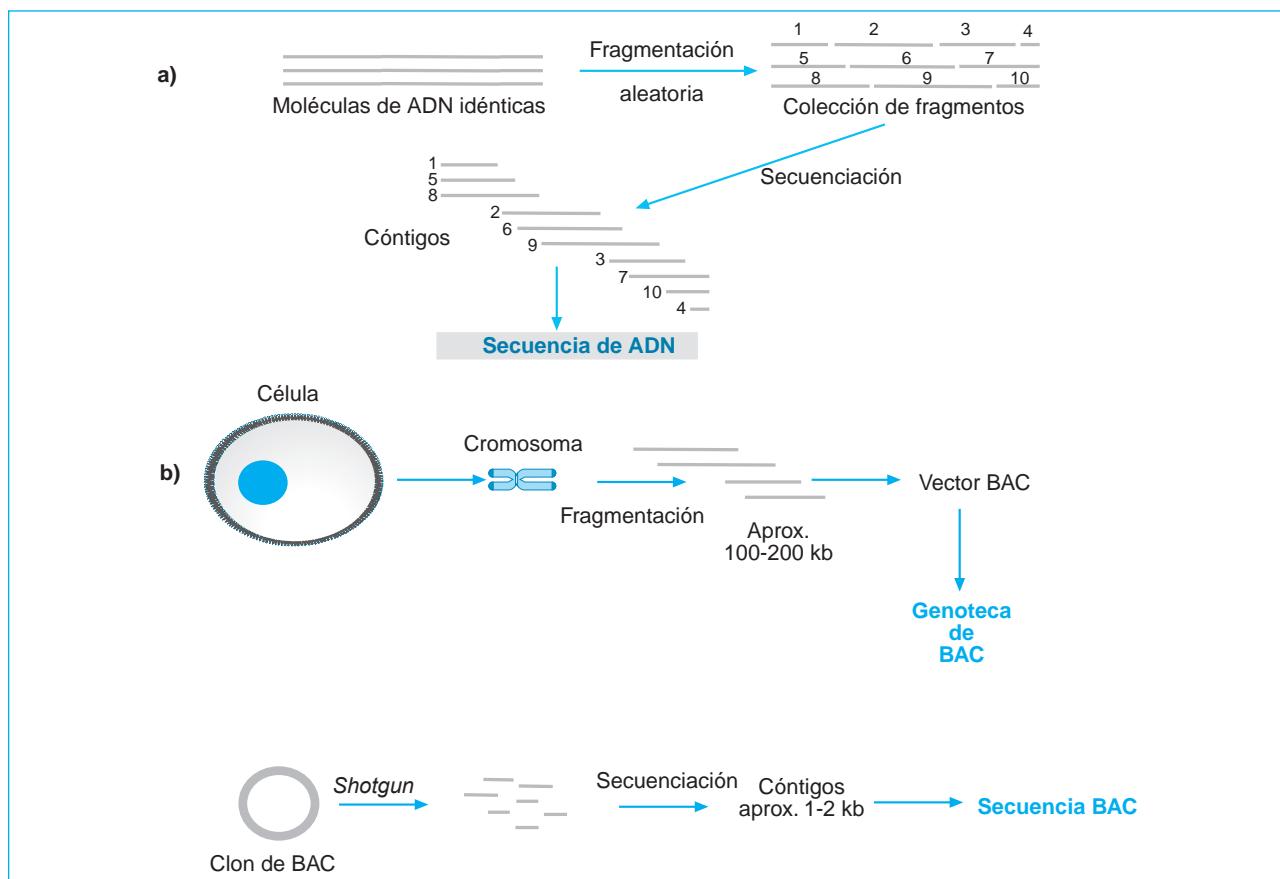


Figura 24-1. Estrategias de secuenciación de genomas. a) Secuenciación tipo shotgun. b) Secuenciación jerárquica.

de diferentes países (Estados Unidos, Canadá, Japón y varios países europeos), y era el resultado de más de 10 años de trabajo dentro del Proyecto Genoma Humano.

El otro fue producido por una compañía privada (*Celera Genomics*) creada tan sólo tres años antes de la publicación del borrador. Mientras que el Consorcio, partiendo de un ADN obtenido de varios individuos voluntarios de diferentes etnias, y siguiendo una estrategia de secuenciación jerárquica (clonación seguida de *shotgun*), obtuvo un borrador del genoma humano que está disponible de forma gratuita en los bancos públicos de datos, la empresa Celera llevó a cabo un *shotgun* directo de todo el genoma a partir de una muestra de ADN, procedente de dos hombres y tres mujeres de diferentes grupos étnicos. Aunque para completar su borrador la compañía recurrió a la información disponible en los bancos públicos, a los datos del borrador de la compañía sólo se accede restringidamente mediante pago. El Consorcio ha seguido durante estos últimos años completando la información sobre el genoma humano del que se ha secuenciado alrededor del 99%.

24.4 ALGUNAS CARACTERÍSTICAS DEL GENOMA HUMANO

Aunque entre los dos borradores conocidos del denominado «libro de la vida» existen algunas diferencias, en su conjunto presentan un patrón de coincidencia que permite ofrecer una visión integrada de las características más relevantes del genoma humano.

Uno de los aspectos más interesantes aportados por la secuencia del genoma humano es el *número de genes* codificantes de las proteínas. Aunque no se sabe con exactitud, se estima que existen alrededor de 32 000 genes, cifra muy inferior a los 100 000 postulados anteriormente, pero no muy superior a los existentes en ratón y sólo aproximadamente el doble de los existentes en el gusano *C. elegans* o en la mosca *D. melanogaster*, aunque inferior al del arroz (alrededor a 50 000). Todo ello sugiere que no existe una correspondencia clara entre el número de genes y la complejidad de la especie. A pesar de este número de genes relativamente bajo para un organismo tan complicado como el ser humano, se estima

que el número de proteínas existentes en la especie humana es considerablemente superior, lo que puede deberse a que en los genes humanos se produce un *splicing* alternativo más extenso que en otros organismos, con unas estimaciones de al menos tres ARNm diferentes por gen, aunque en algunos casos el número puede ser considerablemente mayor. Este hecho, junto a las diferentes modificaciones postraduccionales que pueden sufrir las cadenas polipeptídicas, determina que el número total de proteínas diferentes existente en los seres humanos pueda superar las 100 000.

Otro aspecto llamativo del genoma humano es que el porcentaje de ADN *codificante de proteína* sea inferior al 2% del ADN total. Aunque desde finales de la década de los setenta se conocía la estructura discontinua de los genes eucarióticos, en donde los intrones ocupan un espacio mucho mayor que los exones (véase el Cap. 18), no parecía lógico esperar un porcentaje tan bajo de ADN codificante. El ADN transcrito se considera que supone el 28% del total, mientras que el restante 72% sería ADN no transcrita, del que más de la mitad correspondería a ADN repetitivo (52% del genoma). Tanto al ADN no codificante, localizado en regiones intergénicas, como al ADN intrágénico que corresponde a intrones, se le ha denominado durante mucho tiempo *ADN basura*, debido a su nulo protagonismo en la célula, pero hay razones para sospechar que parte de este ADN puede desempeñar funciones reguladoras importantes. Así, por ejemplo, se piensa que algunos miembros de la familia de secuencias repetitivas *Alu* (que ocupan alrededor del 10% del genoma), concentradas en la proximidad de los genes y que han sido retenidas en el genoma humano a lo largo de la evolución, pudieran tener alguna funcionalidad. También se han encontrado gran número de secuencias relacionadas con *retrotransposones*, segmentos de ADN que parecen no tener ninguna función excepto la de copiarse y pasar de unas posiciones del genoma a otras. El descubrimiento en los últimos años, en muchos organismos eucarióticos, incluido el ser humano, de la presencia de un gran número de tipos diferentes de ARN con funciones reguladoras, como los micro ARN o los ARN interferentes pequeños, generados a partir de secuencias de ADN consideradas anteriormente como no codificantes, sugiere que quizás se ha menospreciado la relevancia de ese ADN basura, y que tal vez dentro de ese ADN se encuentre la denominada por algunos autores como «cara oculta del genoma».

Aunque la observación microscópica del cariotipo humano indicaba que había variaciones significativas en la estructura de los diferentes cromosomas, la secuenciación del genoma ha venido a poner claramente de manifiesto que existe un *reparto desigual de los genes* entre los diferentes cromosomas. Así, mientras que la densidad promedio teórica estaría alrededor de 10 genes por Mb, el cromosoma 19

está repleto de genes (23 genes/Mb) mientras que el cromosoma 13 es poco denso (5 genes/Mb). En cualquier caso, la densidad génica está muy por debajo de la de los organismos procarióticos, donde son normales densidades próximas a los 1000 genes/Mb. Las denominadas islas CG son también más abundantes en las zonas ricas en genes, lo que refuerza la posibilidad de que actúen como elementos reguladores de los mismos.

Por último, cabe resaltar que la secuencia conocida del genoma humano es la secuencia promedio obtenida a partir de las muestras de los donantes del ADN. Indudablemente, aunque esta secuencia es representativa de la especie humana, no existe una secuencia única para el genoma de todos los seres humanos, y cada individuo, a excepción de los gemelos univitelinos, tiene su propia secuencia personal irrepetible. De hecho, desde antes de la publicación del borrador del genoma humano ya se conocían polimorfismos entre individuos, que afectaban, tanto a secuencias codificantes, como a no codificantes (en especial, minisatélites y microsatélites). Un aspecto pendiente del Proyecto Genoma Humano es determinar la proporción de polimorfismos y su influencia en la funcionalidad del genoma. Uno de los polimorfismos más abundantes afecta a los denominados *polimorfismos de un nucleótido único* (SNP). Los datos preliminares indican que la frecuencia de SNP puede estar próxima a uno por cada kilobase. Desde el punto de vista de la Medicina, el interés se centra en aquellos polimorfismos que están relacionados con la existencia de enfermedades genéticas.

24.5 GENÓMICA COMPARATIVA

La secuenciación de los genomas proporciona una herramienta importante para el estudio de las relaciones evolutivas entre los diferentes organismos, más allá de su mera relación fenotípica (morfológica o bioquímica). La comparación, por medio de sistemas informáticos, de las secuencias de dos especies diferentes puede dar una indicación fehaciente de las analogías y diferencias, a nivel de secuencias de ADN, lo que suministra una importante información acerca de la distancia evolutiva entre las mismas. Esta aproximación ha permitido constatar que los organismos procarióticos están formados por dos grupos diferentes, que divergieron al principio de la formación de la vida en nuestro planeta: las bacterias (*o eubacterias*) y las arqueas (*arqueobacterias*), por lo que los seres vivos han quedado divididos en tres grandes dominios: bacterias, arqueas y eucariotas.

La comparación de secuencias de organismos pertenecientes a los diferentes dominios permite estimar qué genes comparten y que, por tanto, han tenido que estar en ellos desde tiempos ancestrales y cuáles son específicos de una

rama o grupo concreto de organismos. La comparación de las secuencias de dos genes determinados permite calcular la analogía de secuencia. Determinados genes, denominados *homólogos*, presentan un alto grado de conservación de la secuencia porque derivan de un gen ancestral común. Cuando estos genes homólogos pertenecen a dos especies distintas se denominan *ortólogos*. Si los genes derivados del precursor común pertenecen a la misma especie, se denominan *parálogos*. Mientras que la creación de variantes de los genes, a lo largo de la evolución, se ha ido produciendo por diferentes mecanismos durante los procesos de *transferencia vertical* de ADN de los progenitores a la descendencia (tales como mutaciones, duplicación génica y mutación, y recombinación de segmentos génicos), en algunos casos se ha producido una *transferencia horizontal*, desde el genoma de una célula a otra de la misma especie y, a veces, incluso a una especie diferente. Esta transferencia horizontal ha sido importante en la evolución de las bacterias.

La secuenciación del genoma humano ha puesto de manifiesto que el ser humano posee genes homólogos a los existentes en otros eucariotas, desde la levadura al ratón, pasando por el gusano y la mosca. Un gran número de genes de estos invertebrados se han vinculado con genes cuya alteración origina en el ser humano enfermedades importantes, como el cáncer o diversas alteraciones neurológicas. Sorprendentemente, se ha podido constatar también que el genoma humano comparte alrededor de 200 genes con bacterias, genes que no están presentes en el gusano o en la mosca, lo que parece indicar que dichos genes pudieron pasar, por transferencia horizontal, desde las bacterias hasta el genoma ancestral de un vertebrado.

A parte de la relevancia que la genómica comparativa tiene para una mejor comprensión del proceso evolutivo en términos moleculares, la secuenciación de los genomas de especies más próximas al ser humano presenta un interés fundamental para entender los mecanismos de procesos biológicos básicos y para el desarrollo de modelos que puedan servir de base para el estudio de enfermedades genéticas. En este sentido, se han publicado borradores de los genomas de ratón y pollo, al que seguirá el de la rata, existiendo una cierta prioridad para secuenciar el genoma del chimpancé, porque aunque se estima que la secuencia del ADN de chimpancé está muy próxima a la de los seres humanos, debe haber diferencias concretas que expliquen, por ejemplo, la diferente susceptibilidad de ambas especies a enfermedades como la malaria o el SIDA. La determinación de estas diferencias podría ser muy importante para desarrollar estrategias preventivas frente a estas enfermedades en el ser humano. De igual forma, la secuencia de los genomas de microorganismos patógenos para el hombre, causantes de patologías como la peste, la malaria, la lepra,

la úlcera de estómago, etcétera, puede servir para el desarrollo de métodos eficaces de prevención o tratamiento.

Una secuencia de especial relevancia para la investigación biomédica es la del genoma de ratón, ya que de esta especie se han generado gran número de ratones *transgénicos* que pueden servir de modelo para una mejor comprensión de la patología humana. La comparación de los genomas humano y de ratón ha mostrado que el genoma murino es ligeramente más pequeño que el humano, aunque en ambos casos el número de genes es próximo a 30 000, con un 90% de regiones que presentan *sintenia* conservada, lo que refleja que la ordenación de los genes se ha conservado en ambas especies. Existe además una analogía de secuencia de alrededor del 40%, que correspondería a las secuencias ortólogas que se han mantenido en las dos especies, habiéndose producido en el ratón la expansión de familias génicas que pudieran estar relacionadas con el olfato o la reproducción.

24.6 LA ERA POSGENÓMICA: GENÓMICA FUNCIONAL Y PROTEÓMICA

El conocimiento de los genomas de las diferentes especies, pero, en especial, de la humana y la murina por su incidencia en Biomedicina, ha permitido, en los últimos años, cambiar el enfoque experimental utilizado para el progreso en el conocimiento de los procesos y mecanismos relacionados con la enfermedad. Así, se ha podido pasar desde una aproximación reduccionista, centrada en el estudio o la influencia de un gen o de una proteína concreta implicada en un determinado proceso biológico, al estudio de conjuntos de centenares de genes y de proteínas, cuya expresión puede cambiar entre dos condiciones fisiológicas diferentes o entre situaciones normales y patológicas.

Aunque para el estudio de la expresión de ARNm diferentes se pueden utilizar las técnicas clásicas de análisis de Northern y RT-PCR (véase el Cap. 23), para el análisis a gran escala de moléculas de ARN se han desarrollado distintas técnicas de alto rendimiento, que permiten determinar la abundancia de millares de ARN distintos en dos muestras diferentes. Una de estas técnicas está basada en el uso de *micromatrices* (*microarrays* o *chips*), que son soportes sólidos de cristal o nailon sobre los que, mediante robots, se depositan o se generan, en posiciones regulares preestablecidas, secuencias de ADNc u oligonucleótido concretos, que son capaces de hibridar, bajo determinadas condiciones, con moléculas de ARNm o ADNc, marcadas con un producto fluorescente o con radiactividad, que puedan existir en una muestra concreta, pudiéndose, asimismo, comparar el patrón de hibridación producido por dos muestras diferentes (de dos condiciones fisiológicas distintas, o normal frente a patológico).

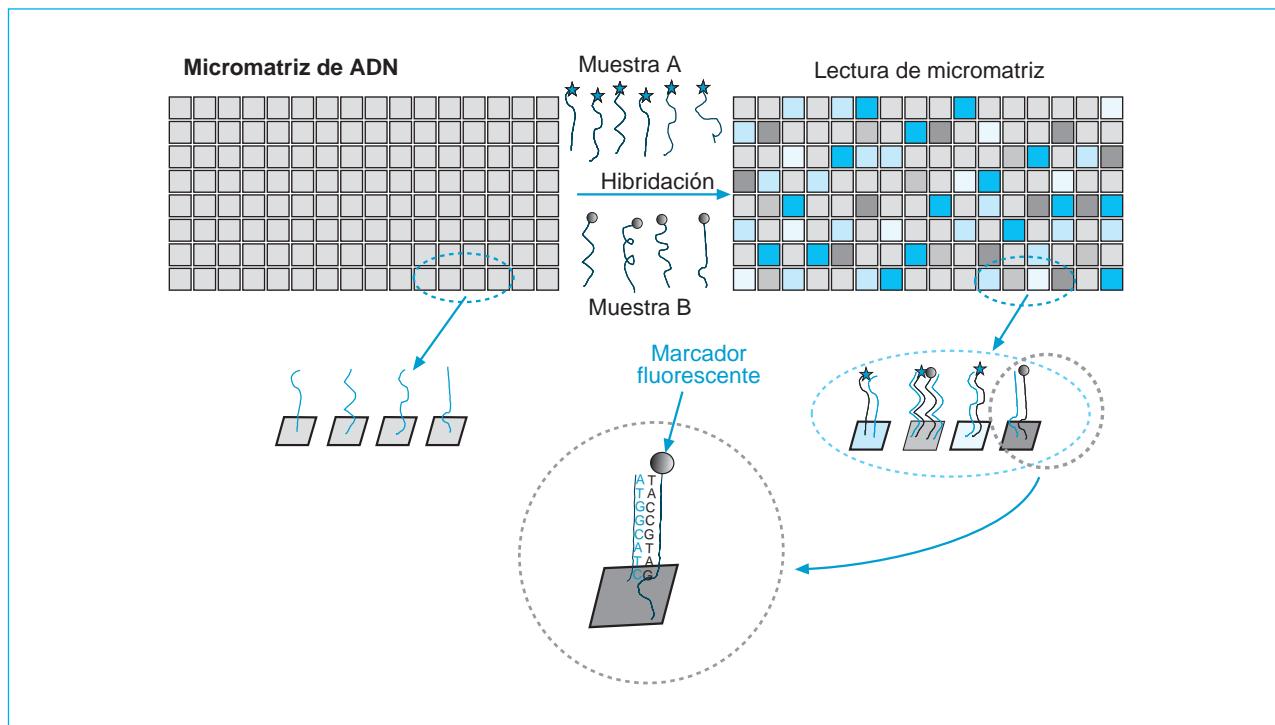


Figura 24-2. Análisis de la expresión de genes mediante micromatrices de ADN. Cada cuadrícula de la matriz lleva unida una cadena pequeña de secuencia conocida. Muestras de ARNm o ADNc obtenidas a partir de dos situaciones diferentes, A y B, marcadas con un compuesto fluorescente distinto, se hibridan con la matriz, y se analiza el grado de fluorescencia en cada cuadrícula.

También se pueden analizar simultáneamente en una matriz dos muestras diferentes, si en cada una de ellas, se ha marcado la población de ácido nucleico a analizar con un grupo fluorescente diferente, lo que permite estimar la abundancia relativa de cada ARN, en función de la proporción de las moléculas de cada muestra que se une a las moléculas de ácido nucleico inmovilizadas en las diferentes posiciones de la matriz (Fig. 24-2). Este tipo de análisis tiene gran interés en oncología, ya que la determinación del patrón de expresión de genes característicos en un determinado tipo de cáncer puede ser importante en el pronóstico y tratamiento del enfermo.

También resulta interesante el estudio del conjunto de proteínas que se expresan en un determinado grupo de células o tejidos, ya que el proteoma suministra una aproximación más real a la funcionalidad de un organismo vivo que el de la expresión de ARNm, pues es sabido que la abundancia de un determinado ARNm no está necesariamente relacionada con la cantidad de proteína expresada. Desde el punto de vista de la Medicina resulta importante determinar qué proteínas cambian su expresión en un determinado proceso patológico, o cuáles pueden ser específicas en un determinado tipo de cáncer, ya que el estudio detallado de las mismas puede suministrar una información muy valiosa para el desa-

rrollo de medicamentos más específicos y con menos efectos indeseables.

Entre las diferentes técnicas utilizadas por la *proteómica* para el análisis de proteínas se encuentran la *electroforesis bidimensional*, basada en la separación de las proteínas de una muestra en función de su carga eléctrica y de su tamaño, lo que da lugar a la obtención de la «huella proteica» de una determinada muestra procedente de un líquido o tejido y permite compararla con la obtenida bajo diferentes condiciones fisiológicas o patológicas (Fig. 24-3). A partir de una de las manchas del gel se puede determinar las características de la proteína en cuestión, sometiéndola a un proceso de fragmentación y análisis mediante espectrometría de masas, lo que suministrará un espectro que sirve a modo de huella dactilar para identificar la proteína original. Otras técnicas proteómicas emplean sistemas combinados de alto rendimiento, que incluyen la digestión de la muestra con proteasas específicas para generar fragmentos peptídicos que, tras su separación por técnicas de cromatografía de alta resolución, pueden ser analizados mediante sofisticados equipos de espectrometría de masas (MALDI, MALDI-TOF, etc.), que generan, con ayuda de la información existente en bancos de datos adecuados, la composición proteica de la muestra analizada.

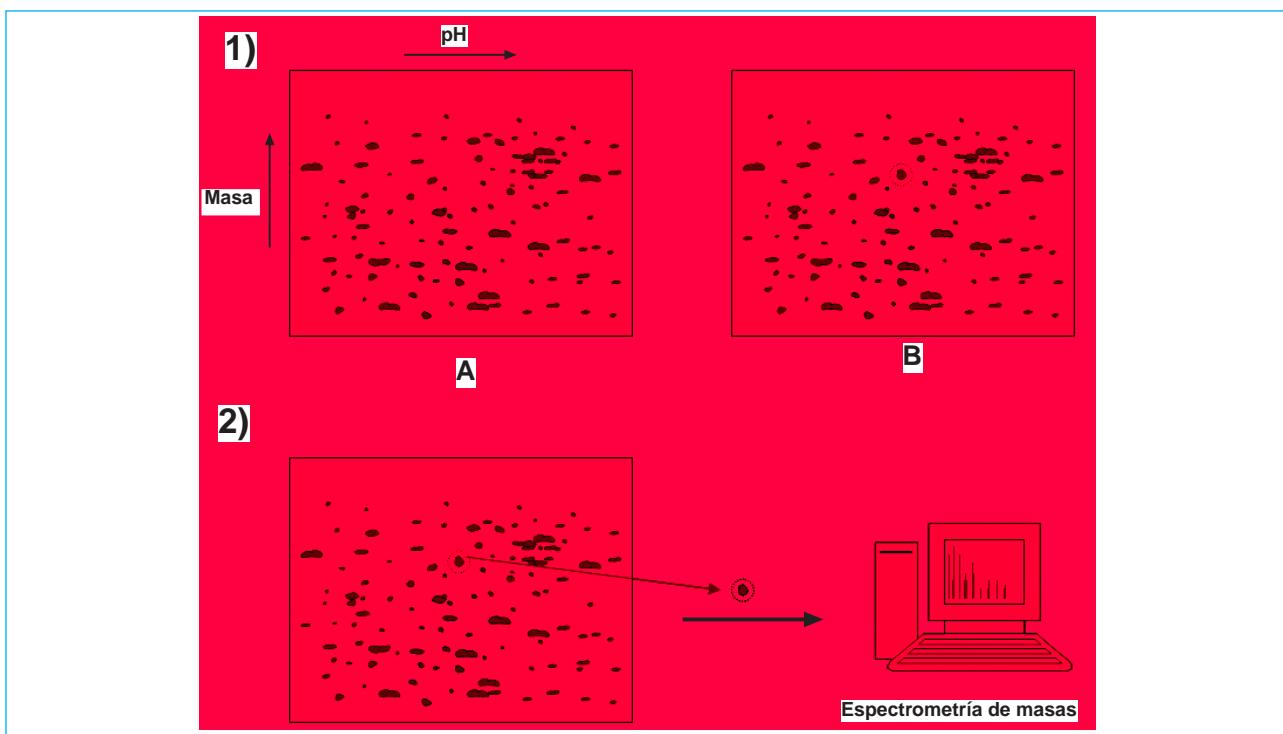


Figura 24-3. Técnicas proteómicas. 1) El análisis bidimensional pone de manifiesto diferencias en el conjunto de proteínas de dos muestras muy parecidas (en este caso, la proteína marcada con el círculo). 2) La proteína en cuestión se puede aislar del soporte y analizar mediante espectrometría de masas, obteniéndose información sobre la misma.

Ya se ha comentado anteriormente que entre los objetivos de la proteómica se encuentra no sólo caracterizar nuevas proteínas, sino establecer también su función. Aunque, en algunos casos, desde la secuencia génica de una proteína de función desconocida se pueden obtener, por comparación con las secuencias de otras proteínas de función conocida, detalles que den alguna información sobre la función de la misma, el establecimiento de su función requiere de experi-

mentación adicional. Otra de las estrategias para saber más acerca de una proteína dada, consiste en determinar con qué tipo de proteínas celulares o extracelulares interacciona o se asocia (aproximación, a veces, denominada «culpable por asociación»). La técnica del *doble híbrido de levadura*, utilizada en numerosos casos para establecer relaciones entre pares de proteínas, se describe someramente en el Recuadro 24-1.

Recuadro 24-1.
**ESTUDIO DE LAS
INTERACCIONES ENTRE LAS
PROTEÍNAS MEDIANTE LA
TÉCNICA DEL DOBLE HÍBRIDO
DE LEVADURAS**

El conocimiento del genoma de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la metodología disponible para el estudio molecular de este organismo ha permitido el desarrollo de métodos como el del doble híbrido, que posibilita definir diferentes aspectos de la interacción proteína-proteína como: a) el estudio de las interacciones entre un par de proteínas que se sospecha que pueden interactuar; b) establecer qué proteína entre las de un conjunto de proteínas Y (o «presas») interacciona con una proteína específica de interés (denominada «cebo»), y c) determinar cuáles son los dominios responsables para la interacción entre dos proteínas que se sabe que interactúan.

El método se basa en las propiedades de un activador transcripcional, la proteína Gal4, formada por dos dominios fundamentales independientes: el dominio de unión a promotores o secuencias de ADN específicas (dominio de unión a ADN o DUA) y el dominio de activación (DA). Las secuencias génicas codificantes de ambos dominios se pueden separar y unirse a las secuencias de los genes X e Y, cuyas proteínas se quiere determinar si interactúan. Se construyen, pues, dos tipos de plasmidos codificantes de proteínas: uno, que codifica el dominio DUA fusionado al gen de la proteína X («cebo») que al expresarse dará lugar a una proteína híbrida DUA-X, mientras que el otro contiene la secuencia codificante del dominio DA fusionado al gen de la(s) proteína(s) Yx («presas»), que dará lugar a proteínas recombinantes hibridas DA-Y (en este grupo habrá tantos plasmidos recombinantes como «presas» a analizar). Un plasmido de cada tipo se introduce en el interior de la

levadura que contiene la secuencia de unión a Gal4 asociada a un gen «delator», cuya expresión es capaz de desarrollar una actividad enzimática que puede determinarse fácilmente mediante el desarrollo de un color. La activación del gen delator se producirá cuando las dos proteínas hibridas sean capaces de interactuar, ya que entonces es cuando se reconstituye la proteína Gal4 funcional.

En la Figura 24-4 a se muestra la activación del gen delator (p. ej., β -galactosidasa) cuando la proteína Gal4 se une a la secuencia específica del ADN. En la Figura 24-4b se esquematiza que de entre tres proteínas hibridas tipo presa (Y_1, Y_2, Y_3) sólo en el caso de Y_2 se produce la activación del gen delator, debido a la interacción entre la proteína «cebo» X y su «presa» correspondiente Y_2 .

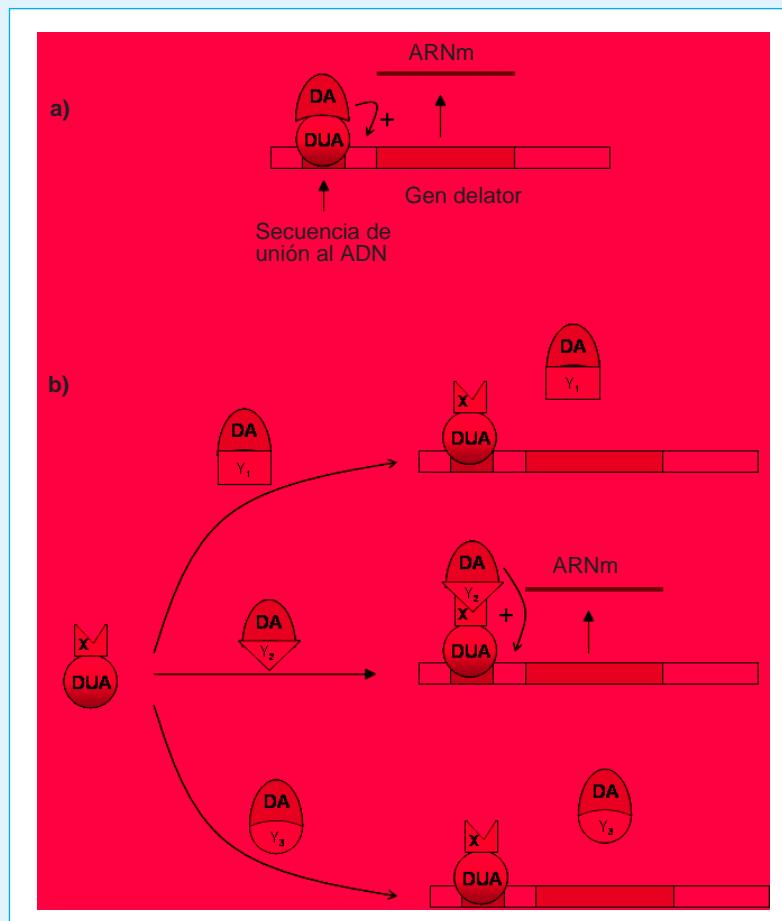


Figura 24-4. Determinación de interacciones entre proteínas mediante el método de doble híbrido de levadura. a) Un factor de transcripción formado por dos dominios (DUA: dominio de unión a ADN; DA: dominio de activación) se une a su promotor y estimula la transcripción de un gen fácilmente identificable (gen delator). b) Se forman construcciones del DUA con la proteína cebo y de DA con el conjunto de proteínas (presas) que pueden interactuar con el cebo. La interacción correcta ($X-Y_2$) genera un factor de transcripción híbrido capaz de activar el gen delator. La conclusión es que X interacciona con Y_2 , pero no con Y_1 ni con Y_3 .

RESUMEN

- Se conoce como genoma al conjunto de genes y secuencias de ADN que constituyen el patrimonio genético de un determinado ser vivo.
- Gracias a los avances en las técnicas de secuenciación y clonación de las moléculas de ADN ha sido posible determinar la secuencia completa de los genomas de diferentes organismos.
- A la secuenciación de moléculas pequeñas de ADN, como las de virus, plásmidos y mitocondrias, ha seguido la secuenciación de más de un centenar de genomas bacterianos y decenas de genomas eucarióticos desde los más sencillos, como los de levaduras y protozoos, hasta los genomas de plantas, invertebrados, peces, aves y mamíferos.
- La secuenciación del genoma humano, llevada a cabo de manera independiente por un Consorcio Público Internacional y por una compañía privada, ha supuesto un hito importante para el avance del conocimiento de la estructura, la organización y el funcionamiento de los genes, para una mejor comprensión de la patología humana relacionada con las alteraciones genéticas y para profundizar en los aspectos moleculares de la evolución.
- La genómica comprende el conjunto de técnicas y estrategias encaminadas a la caracterización molecular de la estructura y el funcionamiento de los genomas de los seres vivos. Se subdivide en genómica estructural, funcional, comparativa, etcétera.
- Al conjunto de moléculas de ARN diferentes existentes en una célula se le denomina transcriptoma, mientras que al de proteínas se le denomina proteoma.
- En la secuenciación de los genomas se han utilizado diferentes estrategias: la secuenciación *shotgun*, que incluye la secuenciación y ordenación de múltiples fragmentos generados al azar a partir del genoma completo, y la secuenciación jerárquica, en la que el genoma se subdivide en varios elementos o fragmentos de un determinado tamaño, que se subfragmentan y secuencian, y a partir de las mismas se establece la secuencia del genoma.
- El genoma humano consta de alrededor de 3 Gb, de las que sólo un 2% constituyen secuencias codificantes de proteínas, alrededor de un 30% se transcriben y más de la mitad son secuencias repetitivas.
- Se estima que en el genoma humano existen alrededor de 32 000 genes, aunque el número total de proteínas que se pueden generar es considerablemente superior, debido al *splicing* alternativo y a las modificaciones postraduccionales.
- La densidad génica es mucho menor que en las bacterias, existiendo un reparto desigual de los genes entre los diferentes cromosomas.
- Existen variaciones en la secuencia entre las diferentes personas, siendo las más abundantes los polimorfismos de sólo un nucleótido (SNP) de los que se estima existe uno por cada kilobase.
- Mientras que muchos de los polimorfismos localizados en las zonas no codificantes no afectan al fenotipo, los localizados en zonas codificantes y en zonas reguladoras pueden estar asociados con enfermedades de tipo genético.
- La genómica comparativa ha permitido establecer relaciones de parentesco genético entre diferentes especies. Aunque la homología de secuencia de los genes humanos es mayor con los genes de otros mamíferos, el ser humano comparte genes con animales más primitivos e, incluso, con bacterias.
- El conocimiento del genoma humano y la existencia de métodos de síntesis de cadenas polinucleotídicas permite analizar, mediante el uso de micromatrizes de ADN, la expresión de centenares de genes diferentes, tanto de función conocida, como desconocida, y establecer los cambios que se producen en ciertas situaciones fisiológicas o patológicas.
- El análisis de las secuencias polimórficas tiene gran interés en medicina legal y forense.
- El desarrollo de técnicas proteómicas de alta resolución permite una aproximación al estudio del proteoma, identificando nuevas proteínas, sus interacciones y sus posibles funciones.

EVALUACIÓN

1. (A). Secuenciación de genomas:
- Para la secuenciación *shotgun* es preciso fragmentar de manera precisa el ADN a secuenciar.
 - La técnica *shotgun* se recomienda cuando el genoma posee muchas secuencias repetitivas.
 - Las secuencias de ADNc que corresponden a secuencias parciales de ARNm se denominan EST.
 - En la actualidad se desconoce la secuencia del ADNmt humano.
 - Todo lo anterior es falso.
- a b c d e
2. (B). Secuenciación del genoma humano:
- Se ha secuenciado alrededor del 99% del genoma humano.
 - La secuencia producida por el Consorcio Internacional es de libre acceso.
 - El porcentaje de ADN codificante de proteína está próximo al 2%.
 - Alrededor de la mitad del genoma está formado por ADN repetitivo.
- a b c d e
3. (A). Secuencias repetidas y genes en el ADN humano:
- Existen miles de secuencias *Alu* repartidas entre los diferentes cromosomas.
 - Todos los cromosomas tienen la misma densidad génica.
 - La densidad génica del genoma humano es mayor que la de *E. coli*.
 - Las islas CpG abundan en las zonas pobres en genes.
 - Hay más de una respuesta correcta.
4. (B). Genoma humano:
- Todos los individuos de un determinado grupo étnico tienen exactamente la misma secuencia.
 - Se estima que existe un polimorfismo de sólo un nucleótido por cada kilobase.
 - El ADN usado para la secuenciación del genoma procedió de un único individuo.
 - El número de genes identificados está próximo a 32 000.
- a b c d e
5. (B). Secuencias de ADN y genomas:
- Un mapa genómico es más completo que un mapa de restricción.
 - Los genes homólogos derivan de un precursor común y tienen analogía de secuencia alta.
 - Los genes homólogos de dos especies distintas se denominan ortólogos.
- a b c d e
4. Los genes de la miosina humana y de ratón se consideran parálogos.
- a b c d e
6. (B). Estudios de la expresión diferencial de genes:
- Se puede llevar a cabo mediante el análisis de ARNm.
 - Las micromatrices de ADN sirven para analizar cambios de expresión de centenares de genes.
 - La técnica de *Northern* puede indicarnos cambios en el patrón de expresión de un gen.
 - Se lleva a cabo normalmente mediante la técnica de *Southern*.
- a b c d e
7. (A). Análisis del proteoma:
- Se centra en el estudio de los ARN existentes en una célula.
 - La electroforesis bidimensional puede servir para suministrar la «huella proteica» de un tejido.
 - El análisis por MALDI-TOF es una técnica utilizada por la proteómica.
 - Se consigue fundamentalmente mediante la secuenciación automática de Sanger.
 - Hay más de una respuesta correcta.
8. (C). El número de genes encontrados en el genoma humano es mayor que en la mosca *Drosophila* PORQUE dicho número guarda una relación lineal exacta con el número de pares de bases que constituyen el genoma.
- a b c d e
9. (A). Técnica del doble híbrido de levadura:
- Se utiliza para obtener especies de levaduras resistentes a antibióticos.
 - Sirve para determinar interacciones entre proteínas.
 - La activación del gen «delator» indica que el sistema no funciona.
 - En ella es crítica la unión covalente de la proteína «cebo» al ADN.
 - Hay más de una respuesta correcta.
10. (B). Genómica comparativa:
- No se ha logrado por el momento la secuenciación de bacterias patógenas.
 - El genoma humano tiene un mayor parecido con el de *C. elegans* que con el de ratón.
 - Ha demostrado la existencia de dos códigos genéticos diferentes en eubacterias y arqueobacterias.
 - El genoma de mosquito posee mayor número de pares de bases que el de ratón.
- a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Boye JA: Using the Human Genome: A Case Study in Education. *Biochem Mol Biol Educ* 2002; 30: 368-371.
- Brown K: El negocio actual del genoma humano. *Inv y C* 2000; septiembre: 34-41.
- Collins FS, Jegalian KG: El código de la vida descifrado. *Inv y C* 2000; enero: 42-47.
- Cornish-Bowden A, Cárdenas ML: Complex networks of interactions connect genes to phenotypes. *TiBS* 2001; 26: 463-465.
- De Waal FBM: Bases genéticas y ambientales de la conducta. *Inv y C* 2000; enero: 48-53.
- Ezzell C: Más allá del genoma humano. *Inv y C* 2000; septiembre: 48-53.
- Ezzell C: La proteómica en el horizonte. *Inv y C* 2002; junio: 47-53.
- Gibbs WW: El nacimiento de la epigenética. *Inv y C* 2004; abril: 16-23.
- Howard K: La fiebre bioinformática. *Inv y C* 2000; septiembre: 42-47.
- Kima PE, Rasche ME: Sex Determination Using PCR. *Biochem Mol Biol Educ* 2004; 32: 115-119.
- Rappaport J, Mann M: What does it mean to identify a protein in proteomics? *TiBS* 2002; 27: 74-78.
- Tsien JZ: Ratones expertos. *Inv y C* 2000; junio: 44-50.
- Walker JM, Gingold EB: *Biología Molecular y Biotecnología*. Zaragoza. Editorial Acribia, 1997.
- Watson JD: The human genome project: past, present and future. *Science* 1990; 248: 44-49.
- Williams DM, Cole PA: Kinase chips hit the proteomics era. *TiBS* 2001; 26: 271-273.

25.1 INTRODUCCIÓN

El objetivo principal de la Patología molecular consiste en definir los mecanismos moleculares subyacentes a los procesos patológicos. Como quiera que una gran parte de las enfermedades es el resultado de la interacción de los genes con el medio ambiente, una parte esencial de la Patología molecular está relacionada con la Genética molecular.

En función del tipo de participación de los genes en el proceso patológico, las enfermedades o alteraciones genéticas se han clasificado en *monogénicas*, *cromosómicas* y *plurigénicas o multifactoriales*. En todas ellas subyace una alteración, en mayor o menor grado, del material genético. De los varios miles de enfermedades genéticas conocidas, una gran mayoría no tiene un tratamiento efectivo. En algunas ocasiones, la eficacia del tratamiento paliativo depende de una detección precoz, como es el caso de determinadas *metabolopatías*. Otras veces, como en la hemofilia o en la diabetes dependiente de insulina, el tratamiento ha de ser continuado y requiere el aporte del factor proteico de coagulación o de la hormona insulina, respectivamente.

Parece evidente que la solución de un problema celular originado por la alteración de un gen concreto podría estar en la introducción y expresión de una copia del gen normal en esas células. Para lograrlo, es preciso conocer cuál es el gen alterado, tener aislado dicho gen y disponer de la tecnología que permite introducir el gen concreto en células o tejidos de ese individuo y, además, que ese gen se exprese como lo hace el gen normal en los tejidos normales. Mientras que la Patología molecular se encarga de conocer el problema, la terapia génica intenta lograr la introducción del material genético en las células con fines terapéuticos. El futuro de la denominada Medicina molecular va a depender en gran medida de los avances en el campo de ambas disciplinas.

25.2 ENFERMEDADES MONOGÉNICAS Y SU BASE MOLECULAR

25.2.1 Enfermedades monogénicas

Las *enfermedades monogénicas* están causadas por alteraciones o mutaciones en uno o en los dos alelos, que dan lugar a

productos (proteínas o enzimas) con actividades anormales. En muchos casos, la mutación produce la ausencia de la proteína en cuestión o la síntesis de una proteína biológicamente inactiva (*mutaciones con pérdida de función*). En las *enfermedades autosómicas* recesivas, la mutación de uno de los dos alelos del gen (heterocigosis o condición de heterocigosis) no produce alteraciones fenotípicas evidentes, porque la expresión del alelo normal consigue obtener suficiente proteína activa para el correcto funcionamiento celular o metabólico. Sólo en los individuos homocigóticos, con los dos alelos alterados, aparece la enfermedad como consecuencia de la ausencia o disminución de la proteína funcional.

Sin embargo, ciertas mutaciones pueden afectar a los productos génicos de tal forma que la presencia de la proteína anormal pueda interferir en la normal, provocando la alteración de la función correspondiente (*mutaciones con ganancia de función*). Estas enfermedades en las que la alteración de uno de los dos alelos da lugar a la manifestación de la enfermedad en el individuo heterocigótico se denominan *enfermedades autosómicas dominantes*. Cuando el gen alterado se localiza en el cromosoma X, la enfermedad monogénica tiene una forma de herencia característica, que se denomina *ligada al X*.

Las enfermedades monogénicas muestran unos patrones de herencia característicos (*herencia mendeliana*), y aunque su incidencia suele ser baja, se conocen más de 5000 fenotipos patológicos debidos presumiblemente a la alteración de sólo un gen. Algunas de estas enfermedades se enumeran en la Tabla 25-1.

El avance en el conocimiento, en el nivel molecular, de las enfermedades monogénicas ha permitido demostrar la heterogeneidad de las mismas, lo que significa que pueden existir diversas formas mutantes patológicas de un gen, todas ellas relacionadas con productos génicos alterados, directamente involucrados en el desarrollo de la enfermedad. La diferente afectación de la proteína alterada, en función del tipo concreto de lesión molecular en el gen, puede explicar las distintas gradaciones conocidas de determinadas enfermedades monogénicas.

La dilucidación de la alteración concreta de la secuencia génica en un enfermo permite determinar, por ejemplo, si los dos alelos alterados presentan la misma alteración o si corres-

Tabla 25-1. Incidencia de algunas enfermedades monogénicas

Enfermedad	Incidencia*	Gen implicado
Anemia falciforme	1:400-800	Cadena globina β
β -Talasemias	1:400-1000	Cadena globina β
Hipercolesterolemia familiar	1:500	Receptor LDL
Fibrosis quística	1:2000	Canal iónico de cloruro (CFRT)
Enfisema	1:3500	α_1 -Antitripsina
Enfermedad de Tay-Sachs	1:3000	Hesoxaminidasa A
Síndrome de Lesh-Nyham	1:10 000	Hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa
Distrofia de Duchenne	1:10 000	Distrofina
Fenilcetonuria	1:15 000	Fenilalanina hidroxilasa
Enfermedad de Huntington	1:20 000	Huntingtina
Jarabe de Arce	1:200 000	Deshidrogenasa de aminoácidos ramificados
Inmunodeficiencia grave	< 1:100 000	Adenosina desaminasa

*Incidencia máxima en algunos grupos de población.

ponden a mutaciones iniciales diferentes. Este conocimiento molecular sirve también para determinar la presencia o ausencia de los genes alterados en los familiares del enfermo. La *heterogeneidad alélica* en las enfermedades autosómicas hereditarias puede dar lugar a diferentes grados fenotípicos, o variantes de la enfermedad en cuestión, en función de las posibles combinaciones entre los alelos alterados. Para muchos genes se ha comprobado que las alteraciones moleculares que dan lugar al mismo fenotipo patológico pueden ser de naturaleza diversa, por lo que una misma patología puede estar relacionada con varias formas defectuosas del gen. En caso de no consanguinidad entre los padres, el genotipo suele ser combinado, más que verdaderamente homocigótico.

25.2.2 Mutaciones génicas

Como se comentó en el Capítulo 19, el ADN está sometido a diversos cambios hereditarios, producidos fundamentalmente durante los procesos de replicación y reparación del ADN. Los nuevos cambios o *mutaciones* se pueden generar tanto en las células somáticas, como en las germinales. En el segundo caso, las mutaciones pueden ser transmitidas a la descendencia del individuo.

La variación de la secuencia de los alelos da lugar al polimorfismo del ADN. En muchos casos estos polimorfismos no generan ninguna enfermedad, y sólo en casos concretos las mutaciones en la secuencia del ADN dan lugar a trastornos (*mutaciones patogénicas*). En este caso, las secuencias

afectadas suelen ser secuencias codificantes de proteínas, secuencias intrágénicas no codificantes (intrones y exones no traducidos) y secuencias reguladoras no transcritas.

La alteración más común que se puede producir en un segmento de ADN es una *mutación puntual* o puntiforme, que afecta a una única base de la secuencia. Las *sustituciones* que implican el reemplazo de una base por otra son las más frecuentes, seguida de las *deleciones*, o eliminaciones consistentes en la pérdida de uno o más nucleótidos. También se han detectado *inserciones* de uno o más nucleótidos, *duplicaciones* e *inversiones*, aunque su proporción es mucho menor que la de las sustituciones o deleciones.

Las sustituciones pueden ser de dos tipos: *transiciones* (cambio de una purina por otra purina o de una pirimidina, por otra pirimidina) y *transversiones* (cambio de una purina por una pirimidina o viceversa). Determinadas sustituciones en la secuencia codificante del ADN no cambian los aminoácidos de la proteína codificada, ya que sustituyen un codón determinado por un codón sinónimo. Estas mutaciones neutras, denominadas *sinónimas* o silenciosas, afectan generalmente a la tercera base del codón y, en algunos casos (codones de leucina o arginina) a la primera base del codón. Las sustituciones no sinónimas pueden dar lugar al reemplazo de un aminoácido por otro dentro de la cadena polipeptídica (*mutación de aminoácido* o «*missense*») o al cambio de un codón codificante por un codón de terminación (*mutación terminadora* o «*nonsense*»), lo que dará lugar a la formación de una proteína truncada (Fig. 25-1).

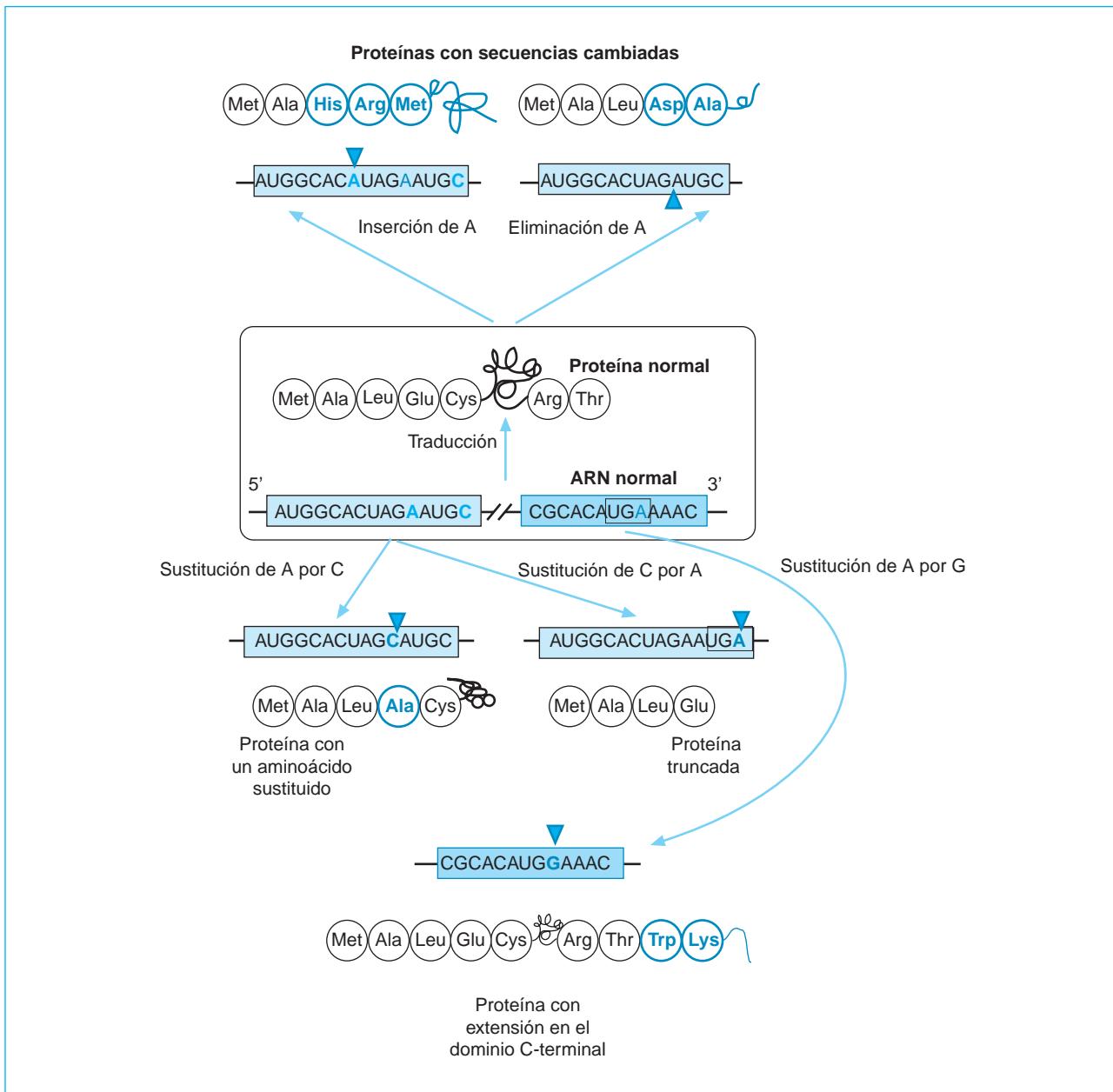


Figura 25-1. Efectos de algunos tipos de mutaciones puntuales. En la parte central se representan dos secuencias parciales de un ARNm que corresponden al inicio de la secuencia codificante (parte izquierda) y al final de la misma (parte derecha), así como la secuencia proteica correspondiente. En la parte inferior se representan tres tipos de sustituciones que no corresponden a mutaciones silenciosas. La sustitución de A por C en la zona señalada de la izquierda da lugar a la sustitución de un aminoácido por otro (Glu por Ala). En cambio, la sustitución de C por A en una zona próxima a la anterior, da lugar al cambio de un triplete codificante de Cys por un triplete de terminación (UGA), lo que origina la síntesis de una cadena polipeptídica truncada. A la derecha se representa una sustitución de A por G en la parte terminal de la secuencia codificante del ARNm, que origina en este ejemplo la sustitución de un triplete de terminación (UGA) por un triplete codificante de aminoácido (UGG), lo que determina la incorporación de Trp y la extensión de la cadena con varios aminoácidos que no estaban presentes en la secuencia C-terminal de la proteína no mutada. En la parte superior izquierda se representa el efecto producido por la inserción de un nucleótido de A entre C y U, al inicio de la zona codificante del mensajero, que origina un cambio en la pauta de lectura y la síntesis de una proteína químérica muy diferente a la original. En la parte superior derecha se representa que la eliminación o deleción de un nucleótido en una zona próxima a la anterior (eliminación de A entre G y A) produce también un cambio en la pauta de lectura que da lugar a una proteína químérica diferente a la producida por la mutación anterior.

Dentro de las mutaciones de aminoácido, las sustituciones pueden ser *conservadoras*, si se sustituye un aminoácido por otro similar, o *no conservadoras*, en el caso contrario, estando estas últimas más ligadas a la aparición de un trastorno patológico. Las sustituciones se suelen denominar indicando la letra que corresponde al aminoácido sustituido, la posición dentro de la cadena polipeptídica y la inicial del aminoácido que lo reemplaza (así, por ejemplo, la denominación R139H significa que se ha sustituido la arginina de la posición 139 por una histidina).

Las sustituciones que afectan a regiones no codificadoras, también pueden producir alteraciones importantes. Efectivamente, los cambios, tanto en las secuencias reguladoras de los genes, como en las secuencias no traducidas de los ARNm o en los intrones (especialmente secuencias relacionadas con *splicing*) pueden ocasionar alteraciones en la transcripción, la traducción o la maduración de los ARNm, que afectarían tanto a la calidad, como a la cantidad de proteína sintetizada.

Varios centenares de enfermedades genéticas tienen su origen en una sustitución. Aunque la mayoría de ellas se generan al azar, otras se producen en secuencias más propensas a la sustitución, y así, los dinucleótidos CpG son *sitios hipermutables*, que dan lugar a las transiciones TpG o CpA. Estos cambios están relacionados con la alta frecuencia de metilación de C en la secuencia CG, para dar mCG. La desaminación espontánea de mC origina T, alteración que no es corregida eficientemente por los sistemas fisiológicos de

reparación del ADN, en contraste con la transformación de C en U (véase el Cap. 19).

Las *deleciones* o pérdidas de nucleótidos en el ADN son también la causa de varios centenares de enfermedades genéticas. Las alteraciones van desde la pérdida de uno o dos pares de bases, hasta delecciones muy largas (de hasta cientos de kilobases). Se piensa que la recombinación homóloga desigual (recombinación entre sitios homólogos no alélicos) es la causa fundamental de la mayor parte de las delecciones (p. ej., la recombinación entre las secuencias repetidas *Alu* no alélicas origina una recombinación homóloga desigual).

Las pérdidas de una o dos bases en una zona codificadora darán lugar a un *cambio de la pauta de lectura*, que repercutirá en un cambio de la secuencia de la proteína codificada a partir de ese punto, originando una *proteína quimérica*, que en la mayor parte de los casos será inactiva. La eliminación de las tres bases de un codón genera una proteína que tiene un residuo menos en esa posición, y que en determinados casos puede estar asociado a una enfermedad, como en ciertas variantes de fibrosis quística (supresión de la fenilalanina de la posición 508 del gen CFTR, representada por ΔF508). Las delecciones grandes pueden producir la pérdida de todo el gen o de una parte importante del mismo, con la consiguiente ausencia o alteración de la proteína correspondiente (como ocurre con las *talasemias* de tipo α, donde se producen delecciones de los genes de las globina α, o en la *distrofia muscular de Duchenne* y en la *distrofia muscular de Becker*, en las que hay supresiones de uno o más exones del gen de la *dystrofina*) (Recuadro 25-1).

Recuadro 25-1. **HEMOGLOBINOPATÍAS**

El estudio de las alteraciones de la hemoglobina humana ha contribuido de una manera muy importante al conocimiento actual de las bases moleculares de las enfermedades genéticas. Como se comenta más detalladamente en el Capítulo 30, en los seres humanos existen diferentes tipos de hemoglobinas, especialmente adaptadas para el transporte del oxígeno, en los distintos estadios del desarrollo corporal. También, en el Capítulo 18 se ha comentado la organización de los genes que codifican las distintas cadenas de globinas.

Las enfermedades relacionadas con las alteraciones de las hemoglobinas se pueden dividir en dos grandes grupos: alteraciones estructurales de la hemo-

globina y talasemias. En las enfermedades del primer grupo se sintetizan cantidades normales de globinas que presentan alguna alteración en la secuencia de algunas de las cadenas, y que pueden afectar negativamente a la función de las mismas, mientras que en las del segundo, existen disfunciones debido a la ausencia o disminución de algunas globinas, lo que impide la formación de la cantidad necesaria de la hemoglobina funcional. Los distintos tipos de hemoglobinopatías se relacionan con las mutaciones producidas en los genes o agrupamientos génicos de las globinas. Las sustituciones de bases en las secuencias codificadoras de los genes de las globinas suelen tener como consecuencia la síntesis de globinas con el reemplazo de un aminoácido por otro en la secuencia polipeptídica de la glo-

bina. Existen muchas variantes de este tipo, que pueden dar lugar a alteraciones fenotípicas de mayor o menor grado, según el tipo de sustitución producida. Por ejemplo, la sustitución en la cadena β del ácido glutámico de la posición 6 por valina (Glu/β(6)Val o E6V) da lugar a la formación de una hemoglobina con cadenas α normales y β alteradas, denominada hemoglobina S. Esta hemoglobina es menos soluble que la hemoglobina A normal, y da lugar a eritrocitos anormales en forma de hoz, muy inestables y que producen anemia (anemia falciforme).

En cuanto a las talasemias, aunque se comentarán en el capítulo 30, aquí puede ser oportuno incluir unas consideraciones genéticas. En las talasemias existe un déficit en la síntesis de una de las cadenas de la hemoglobina (α o β), lo que ocasio-

nan las talasemias α o β , caracterizadas por la aparición de hemoglobinas con una composición anormal de cadenas, que son incapaces de llevar a cabo las funciones de la hemoglobina A.

Desde el punto de vista genético, las talasemias pueden estar producidas por distintos tipos de mutaciones que afectan por mecanismos diferentes a la síntesis de hemoglobina:

Los genes de los enfermos de talasemia α suelen presentar grandes delecciones de ADN que afectan a los genes α del *locus* de las globinas α (Fig. 25-2).

En cambio, las talasemias del tipo β están originadas por diferentes tipos de mutaciones que disminuyen la concentración de cadenas β . Tanto las sustituciones de bases, como las delecciones e inserciones pequeñas en el gen β dan lugar a diferentes lesiones que afectan a la transcripción del gen (mutaciones en secuencias reguladoras), al procesamiento normal del ARNhn (mutaciones en los intrones que afectan al procesamiento del ARN, o en la caperuza o en la zona 3' no traducida, que dan lugar a ARNm más inestables) o a la traducción

(Fig. 25-3). A veces, las mutaciones puntuales en la zona codificadora dan lugar a cadenas aberrantes que son degradadas rápidamente. Mutaciones en regiones extrágénicas situadas a miles de pares de bases de los genes de las globinas también dan lugar a talasemias. En la talasemia $\gamma/\delta/\beta$ no se sintetiza ninguna de las cadenas del *locus* tipo β , porque se ha producido una supresión en una región alejada, la región del control del *locus* (RCL), que se necesita para la transcripción de cualquier gen del agrupamiento β (Fig. 25-4).

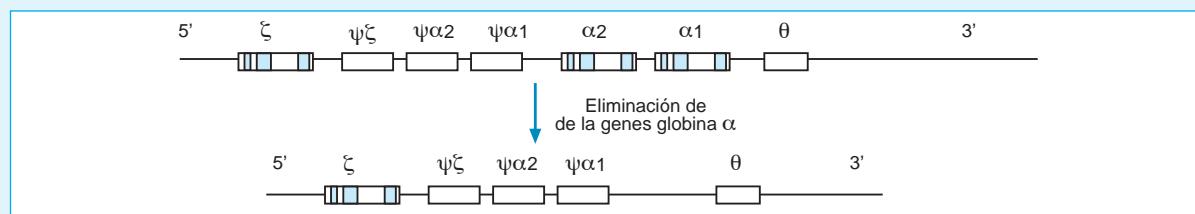


Figura 25-2. Alteraciones génicas en las talasemias tipo α . En la mayoría de las talasemias de tipo α se han perdido los dos genes de la globina α existentes en el locus globínico del brazo corto del cromosoma 16, dando lugar a un déficit de cadenas de globinas α .

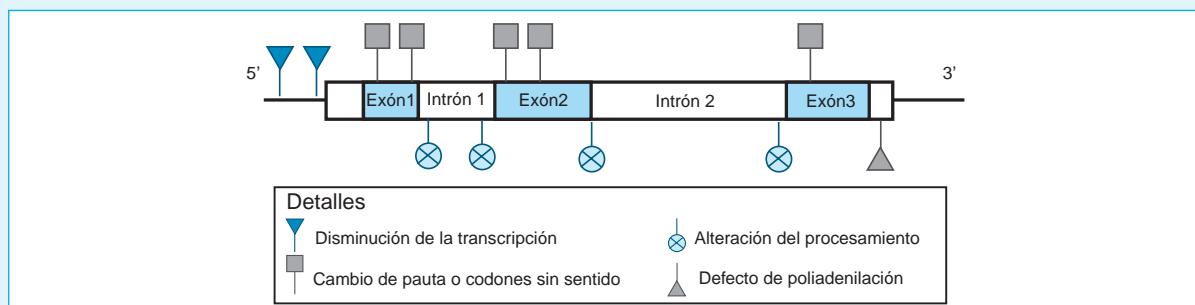


Figura 25-3. Alteraciones génicas en las talasemias de tipo β . En este tipo de talasemias, más corriente que la eliminación del gen son una serie de mutaciones puntuales y delecciones pequeñas que disminuyen drásticamente la síntesis de las cadenas β , o dan lugar a cadenas β anormales que son degradadas. Estas mutaciones afectan al promotor, disminuyendo la transcripción; a los exones, dando lugar a una terminación prematura, o a un cambio de la pauta de lectura; a las secuencias de procesamiento de los intrones, originando un splicing anormal, o a la secuencia de poliadenilación, generando ARNm anormales en su extremo 3', que son rápidamente degradados.

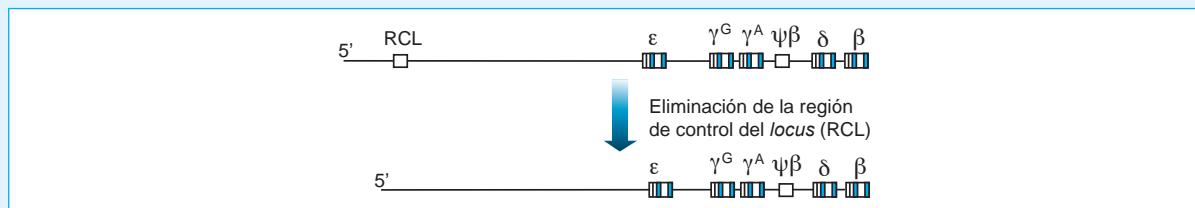


Figura 25-4. Alteraciones génicas en las talasemias de tipo $\gamma/\delta/\beta$. En esta enfermedad existe un déficit de estas globinas, no porque se hayan alterado los genes estructurales de las mismas, sino porque hay delecciones en la región de control del locus globínico β del cromosoma 11 (RCL), lo que determina que no se transcriba ningún gen de este tipo de globinas.

Las inserciones pueden añadir desde unos pocos nucleótidos hasta centenares de pares de bases, como es el caso de la inserción de 220 kb en el gen de la *distrofina*. La inserción de secuencias largas repetidas dispersas (LINE) en exones de determinados genes es también causa de trastornos patológicos (en determinados casos de hemofilia A, se ha observado la inserción de un elemento LINE en el exón 14 del gen del factor VIII). Las duplicaciones de determinados segmentos de un gen pueden producir alteraciones, como ocurre con el gen de la *distrofina*, en el que la duplicación del segmento que va desde el exón 13 al 42 conduce a un gen anómalo que da lugar a una proteína mayor, con un tamaño de 600 kDa, en lugar de los 400 kDa de la proteína normal.

Recientemente, se ha puesto de manifiesto un nuevo mecanismo de mutación (*mutación dinámica*), derivado de la inestabilidad y la expansión de ciertos tripletes que se encuentran repetidos en algunos genes. Así sucede con los genes del *receptor de andrógenos* y el de la *huntingtina*, que tienen el triplete CAG (codificador de glutamina) repetido entre 10 y 30 veces en una zona codificadora de los mismos. La expansión del número de repeticiones por encima de un cierto número origina enfermedades como la *atrofia muscular espinobulbar* o la *enfermedad neurológica de Huntington*. La expansión de tripletes localizados en zonas no codificadoras de un gen, como son las regiones no traducidas 5' o 3' de los ARNm, también está asociada a enfermedades, como la enfermedad del *locus frágil X* o la *distrofia miotónica*.

El mecanismo molecular por el que se produce la amplificación de tripletes no está definitivamente establecido, pero se cree que por causa de las repeticiones de tripletes se puede producir un apareamiento incorrecto por deslizamiento de una hebra sobre la otra durante la replicación de esta zona, que en determinados casos produce inserciones del triplete (deslizamiento de 3xn nucleótidos). En el caso de la amplificación de tripletes codificantes, como el de (CAG)n se produce un cambio en la proteína codificada (aumento del número de repeticiones de las glutamina consecutivas) con una ganancia de función que determina un fenotipo dominante. En el caso de la amplificación de tripletes de zonas no codificantes o de zonas no transcritas, la expansión puede afectar a la traducción del ARNm o la metilación y expresión del gen o genes adyacentes a la secuencia, y en determinados casos puede llegar, incluso, a afectar la estabilidad de la cromatina.

25.3 ENFERMEDADES CROMOSÓMICAS

La replicación del ADN y la distribución ordenada de cada cromosoma entre las células hijas asegura que éstas no presenten excesos ni pérdidas de la información genética.

Cuando esto no ocurre así y se producen errores en estos procesos, se obtienen células con un número incorrecto de cromosomas o con cromosomas que presentan alteraciones estructurales (por pérdidas o duplicaciones de segmentos), las cuales son detectables por observación microscópica. Estas alteraciones se conocen con el nombre de *anomalías* o *aberraciones cromosómicas*.

Las alteraciones cromosómicas se pueden originar en cualquier célula. Cuando se producen en el adulto en una célula somática diferente a las células germinales, todas las células descendientes de la misma van a portar dicha alteración cromosómica. Estas alteraciones somáticas son comunes, por ejemplo, en muchas células cancerosas. Si se producen en una célula durante la formación del embrión, todas las células descendientes de la célula anómala estarán alteradas, obteniéndose un individuo portador de un *mosaicismo cromosómico* (células normales y células alteradas). Las alteraciones cromosómicas completas, que afectan a todas las células del organismo, son las que se han producido en una célula germinal precursora de los gametos, por lo que todo el embrión, formado a partir del óvulo o el espermatozoide alterado, portará la anomalía, la cual se puede transmitir a su descendencia.

Las alteraciones cromosómicas se pueden dividir en dos grandes grupos: las que afectan al número de cromosomas (*anomalías numéricas*) y las que afectan a la estructura de los cromosomas (*anomalías estructurales*). Las primeras son alteraciones que provocan enfermedades más claras que las segundas, ya que en éstas la gravedad de los efectos fenotípicos va a depender de la cantidad y calidad del material genético alterado, bien por supresión (*deleción*) o bien, por inserción, translocación o formación de isocromosomas (Tabla 25-2).

Se distinguen tres clases de alteraciones numéricas de los cromosomas: poliploidías, aneuploidías y mixoploidías. En las *poliploidías*, el número de cromosomas es múltiplo entero (diferente a 2) de la dotación cromosómica haploide. Las más comunes son las triploidías (69 cromosomas) y las tetraploidías (92 cromosomas).

En individuos sanos, pueden existir células tetraploidies (hígado u otros tejidos) y células, como los eritrocitos y plaquetas, que carecen de núcleo y que se denominan nuliploidies. En las *aneuploidías*, el número de cromosomas no es múltiplo entero de la dotación haploide, debido a la existencia de un cromosoma de más o de menos. Las más corrientes son las que afectan al cromosoma 21 o al X; en estos casos, las alteraciones pueden consistir en la presencia de tres copias del mismo cromosoma (*trisomía del 21* o *síndrome de Down*) o en la ausencia de un cromosoma (*monosomía del X* o *síndrome de Turner*). Esto no quiere decir que no se produzcan aneuploidías que afecten a otros cromosomas, sino que al ser más letales

Tabla 25-2. Ejemplos de alteraciones cromosómicas en recién nacidos

Aneuploidías	Autosómicas	Trisomía 21 o síndrome de Down
		Trisomía 18 o síndrome de Edwards
		Trisomía 13 o síndrome de Patau
	Cromosomas sexuales	47XXY o síndrome de Klinefelter
		45X o síndrome de Turner
		47XYY (fenotipo aparentemente normal)
		47XXX (fenotipo aparentemente normal)
Anomalías estructurales	Un cromosoma	Delecciones o eliminaciones: Cromosoma 5 (síndrome del maullido de gato) Cromosoma 4 (síndrome de Wolf-Hirschhorn)
		Duplicaciones
		Inversiones
		Isocromosomas
		Cromosomas en anillo
	Dos cromosomas	Translocaciones: simétricas, asimétricas, robertsonianas

les pueden provocar abortos espontáneos, algunos en fases tan tempranas que pueden pasar desapercibidas.

Las monosomías, a excepción de la monosomía del X, son generalmente letales, lo que pone de manifiesto que la ausencia de un cromosoma suele ser más grave que su exceso. En relación con la patología del cromosoma X, hay que aclarar que la mujer no tiene el doble de productos génicos codificados por el cromosoma X que el hombre, a pesar de poseer dos cromosomas X por célula. Ello es debido a que en un determinado momento del desarrollo embrionario de la mujer, en todas sus células, menos en las germinales, se produce la *inactivación* al azar de uno de los dos cromosomas X presentes y, a partir de ahí, todas las células descendientes de una misma célula inactivan el mismo cromosoma. Este proceso de *inactivación del cromosoma X* produce grandes cambios en la estructura cromatínica del cromosoma inactivado (corpúsculo de Barr), que se cree que vienen mediados por la participación de moléculas de ARN codificadas por el gen Xist, el cual sólo está activo en el cromosoma X inactivo.

25.4 ENFERMEDADES GENÉTICAS NO MENDELIANAS

25.4.1 Alteraciones poligénicas

Existen bastantes caracteres de herencia multifactorial compleja, ya que la aparición de un rasgo depende de la interac-

ción de varios genes con factores ambientales de distinto tipo. Muchas enfermedades de una gran incidencia en los seres humanos, aunque no sean hereditarias en un sentido mendeliano estricto, sí parecen depender de la interacción de factores ambientales con diversos genes. Las enfermedades cardiovasculares, la hipertensión, la diabetes, el cáncer, etcétera, son enfermedades que parecen mostrar un componente hereditario *poligénico* importante. En el caso de algunos tipos de cáncer (como el de mama o el de colon), se han identificado ciertos genes (*BRCA1*, *BRCA2*, *MSH2*, etc.) cuya alteración está relacionada con la aparición de las denominadas formas familiares de estos cánceres.

25.4.2 Enfermedades mitocondriales

La formación de las mitocondrias requiere la participación, tanto de genes nucleares como mitocondriales. Aunque la mayor parte de las proteínas mitocondriales están codificadas por genes nucleares, muchas de las enfermedades conocidas relacionadas con la patología mitocondrial están provocadas por alteraciones del ADNmt (Recuadro 13-4). Las mutaciones en el ADNmt dan lugar a una herencia monogénica de tipo no mendeliano, ya que la herencia del ADNmt es de tipo *materno* (el oocito aporta cerca de 100 000 moléculas de ADNmt por muy pocas o ninguna del espermatozoide). Un ejemplo de *enfermedad mitocondrial* es la *neuropatía óptica hereditaria* o *enfermedad de Leber*. Los hombres que pade-

cen la enfermedad no la transmiten, sí, en cambio, las mujeres, aunque a diferencia de las enfermedades ligadas al cromosoma X, se verán afectados tanto los hijos como las hijas.

La manifestación fenotípica de una enfermedad mitocondrial es variable, posiblemente debido al fenómeno de la *heteroplasmia*, ya que en un mismo tejido pueden coexistir dos poblaciones distintas de mitocondrias: una normal y otra con el defecto genético. La proporción entre ambas puede ser la clave para el grado de manifestación de la alteración. El mecanismo por el cual desde una población con predominio de moléculas de ADNmt normales (homoplasmia) se pasa, a través de la heteroplasmia, hasta un estado homoplásico en el que predomina el ADNmt mutado, está todavía por determinar.

La tasa de mutación del ADNmt de mamíferos se estima que es unas diez veces superior a la de las secuencias equivalentes del ADN nuclear. Aunque no se han establecido las causas para esta disparidad, se sospecha que ésta puede estar relacionada con varias características mitocondriales como: a) la generación de especies reactivas oxigenadas como consecuencia de la actividad respiratoria mitocondrial, que podrían atacar al ADNmt, el cual, a diferencia del ADN nuclear, no se encuentra protegido por histonas; b) el mayor número de replicaciones del ADNmt, que favorecería la posibilidad de generación de mutaciones; c) la carencia de sistemas de reparación por escisión; d) la existencia de un mecanismo de replicación especial que mantiene parte del ADN en estado monocatenario, lo que facilita las desaminaciones espontáneas de C y las transiciones correspondientes.

25.4.3 Impronta génica y enfermedades genéticas

Existen determinadas enfermedades genéticas cuyo grado de expresión fenotípica depende de la procedencia materna o paterna del gen o cromosoma alterado, hecho que puede explicarse mediante la participación de la impronta génica (véase el Cap. 18). Así, por ejemplo, una eliminación en el brazo largo del cromosoma 15 da lugar al *síndrome de Angelman* cuando aquélla se produce en el cromosoma materno, mientras que si afecta al cromosoma paterno origina el denominado *síndrome de Prader-Willi*, claramente diferenciable fenotípicamente del primero.

Enfermedades en las que la impronta génica parece tener un papel importante son, entre otras, la *fibrosis quística*, la *diabetes* dependiente de insulina, la *enfermedad de Huntington* y la *ataxia cerebelosa*.

25.5 TERAPIA GÉNICA

Los grandes avances producidos durante las últimas décadas en la tecnología del ADN y en el conocimiento molecular de

las enfermedades hereditarias han hecho posible el nacimiento de una nueva disciplina: la *terapia génica*. La terapia génica es, en realidad, una estrategia terapéutica encaminada a modificar el material genético de las células enfermas, mediante la administración a éstas de moléculas concretas de ácidos nucleicos. Aunque esta técnica, en un principio, está encaminada a reparar alteraciones genéticas congénitas, como las descritas en los apartados anteriores, la terapia génica también puede ser un medio muy interesante para tratar enfermedades genéticas adquiridas, como el cáncer, las enfermedades autoinmunitarias y determinados tipos de enfermedades infecciosas, como el SIDA.

Los numerosos ensayos clínicos que se han autorizado y llevado a cabo a partir de 1990, fecha en que se realizó con éxito el primer ensayo de terapia génica en un ser humano, se han basado principalmente en los avances de la tecnología del ADN recombinante y de la transferencia de ADN foráneo a células de mamíferos en cultivo, así como en los refinamientos en las técnicas de aislamiento y cultivo de células a partir de tejidos animales.

25.5.1 Introducción de ácidos nucleicos en células de mamíferos

Se conoce por *transfección* el proceso por el que un gen o un fragmento de ADN foráneo es introducido en el interior de una célula de mamífero. Para ello debe disponerse del gen que se ha de introducir en unas concentraciones determinadas, lo que previamente requiere su aislamiento y clonación en bacterias (véase el Cap. 23).

Normalmente, el gen en cuestión se suministra unido a un segmento de ADN, que puede facilitar tanto la captación por las células, como la selección de las células del cultivo en las que se ha introducido el ADN. Aunque el gen pueda ser captado de forma directa, existe una serie de métodos químicos, físicos y biológicos que mejoran de manera notable la eficacia de la transfección (Fig. 25-5). El fosfato cálcico y los liposomas (*lipofección*) facilitan la asimilación del ADN por las células. La apertura transitoria de unos microporos de la membrana celular por medio de una descarga eléctrica controlada (*electroporación*) facilita la captación de moléculas exógenas de ADN por la célula. En algunos casos, también se puede llevar a cabo la transfección mediante el *bombardeo* de las células con micropartículas que llevan asociado (adsorbido) el ADN en cuestión.

Todos estos métodos, aunque consiguen introducir y en muchos casos expresar el gen deseado, suelen tener una eficacia baja y una expresión muchas veces transitoria, ya que el ADN foráneo no suele alcanzar el núcleo celular e integrarse en el ADN nuclear. Frente a estos métodos, los métodos virales, que hacen uso de las estrategias utilizadas por

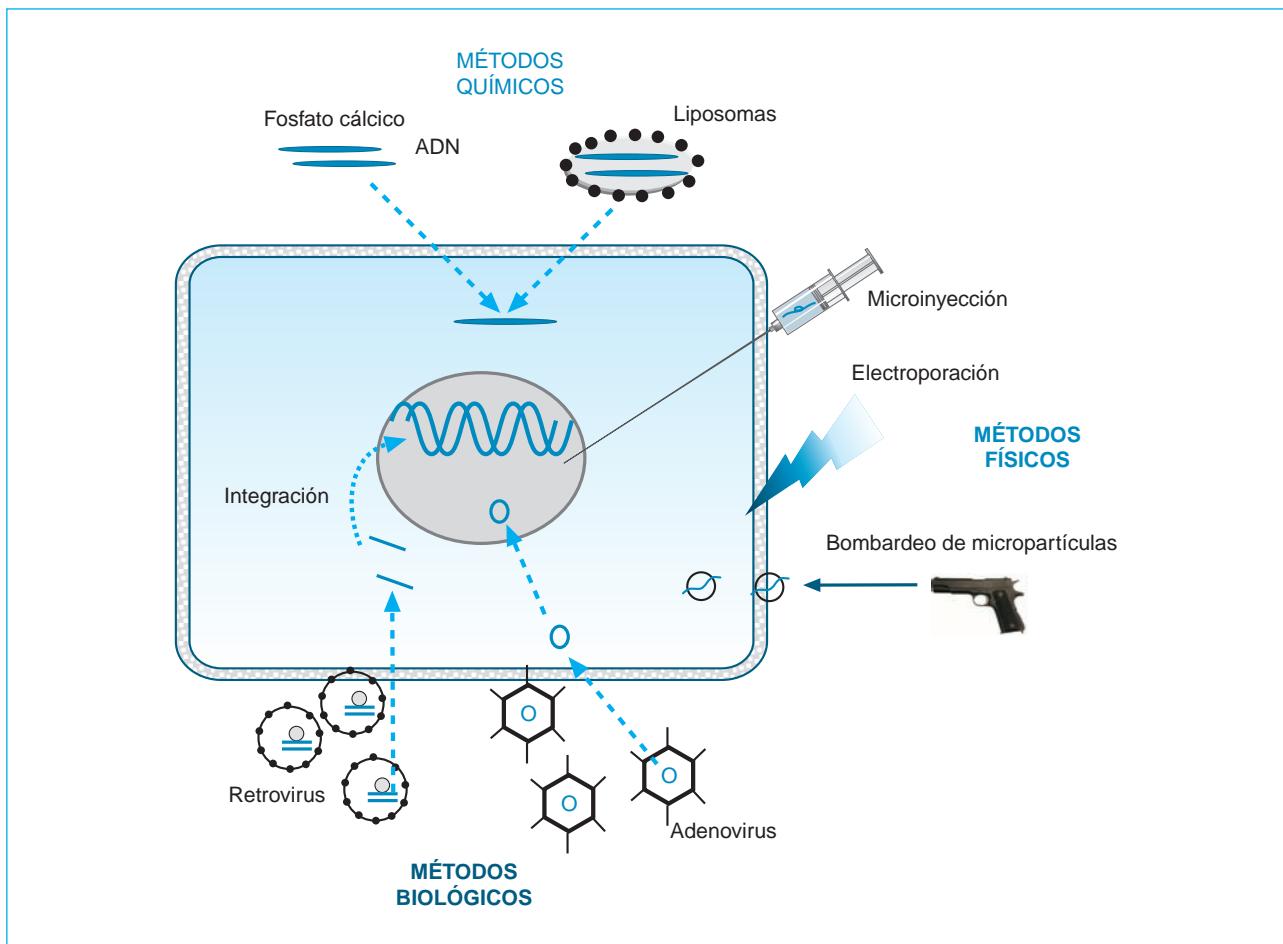


Figura 25-5. Métodos de transfección de células eucarióticas. Distintos métodos químicos, físicos y biológicos utilizados para introducir moléculas de ADN en el interior de células de mamíferos.

los virus para introducirse en las células, muestran una eficacia superior a la de los métodos no biológicos. Dentro de los vectores virales, los retrovirales y los adenovirales son los más eficaces para introducir genes exógenos en células de mamíferos.

Hay que tener en cuenta que en el caso de los vectores retrovirales, la transformación suele ser permanente, ya que tales vectores se integran en el genoma de la célula invadida, expresando de una manera eficaz los genes controlados por los promotores virales, mientras que en el caso de los adenovirales, la expresión suele ser transitoria debido a la localización extracromosómica de los mismos. Por el contrario, la expresión del gen terapéutico, tras la integración de los vectores retrovirales, depende en gran medida de la división celular, mientras que los adenovirales pueden expresarse sin necesidad de división de la célula diana.

La utilización de un retrovirus como vector de transferencia génica requiere una serie de manipulaciones génicas

que persiguen dos objetivos: 1) eliminar del genoma retroviral ciertos genes que codifican proteínas que permiten la multiplicación de los mismos en el citoplasma celular y, 2) mantener otros que contribuyen a la integración y expresión del gen terapéutico que ha sido asociado al vector retroviral (véase el Recuadro 28-1). Algunos vectores, aparte de poseer el ADN humano que se quiere integrar en el genoma celular, incluyen otro gen marcador que permite la selección de las células que expresan los genes del retrovirus recombinante.

25.5.2 Animales transgénicos

De la misma forma que se puede manipular la dotación genética de células somáticas, se puede introducir ADN foráneo en células de embriones de ratón, lo que da lugar a células o animales completos que mantienen integrado el gen foráneo (*transgén*) en todas sus células, siendo capaces de transmi-

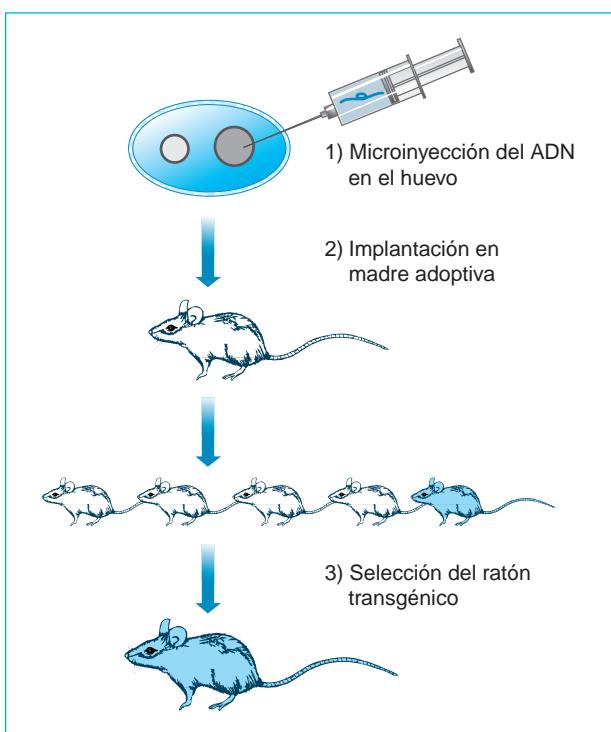


Figura 25-6. Obtención de ratones transgénicos. Tras cruzar ratones se obtienen los óvulos fecundados en un estadio en el que todavía son visibles los pronúcleos que contienen la información genética del óvulo y del espermatozoide. Mediante microinyección se puede introducir una disolución de ADN que contenga el transgén en uno de los dos pronúcleos (este ADN puede integrarse en el genoma del embrión dando lugar a un animal transgénico). Varios embriones microinyectados son transferidos al aparato reproductor de una hembra seudogestante para su gestación. Tras el nacimiento hay que identificar los miembros de la camada que son transgénicos, mediante el análisis de una pequeña muestra de ADN de los recién nacidos. Sólo una pequeña proporción de los embriones microinyectados da lugar a ratones transgénicos.

tirlo de forma hereditaria a su descendencia (ratones *transgénicos*).

Una de las vías más utilizadas para crear ratones transgénicos es la microinyección del ADN en el pronúcleo masculino del embrión de una única célula o cigoto (obtenido del oviducto de un ratón hembra apareada con un macho). La célula cigoto es reintroducida en el oviducto de una madre adoptiva para que se desarrolle y dé lugar a un nuevo individuo (Fig. 25-6). En un porcentaje variable, los embriones inyectados son viables, aunque de éstos sólo una pequeña proporción (menor al 10%) integra el transgén y es realmente transgénica. La inserción del transgén se produce al azar, por lo que cada ratón transgénico fundador tendrá el gen foráneo integrado en un lugar cromosómico único, que será

diferente en cada transgénico fundador. En consecuencia, los descendientes de cada ratón transgénico fundador forman líneas transgénicas específicas.

Aunque existen otras técnicas para obtener animales transgénicos, como la manipulación de células madre embrionarias indiferenciadas (por microinyección o mediante vectores virales) o la transferencia de núcleos diploides desde células somáticas a cigotos enucleados, la mayor parte de los animales transgénicos existentes actualmente se ha obtenido por microinyección pronuclear. Aunque el ratón es el animal más utilizado para la formación de transgénicos, también se han podido obtener ratas, conejos, ovejas y cerdos transgénicos.

Los ratones transgénicos, aparte de servir para el estudio de la regulación de la expresión genética, están siendo utilizados como modelos de enfermedades genéticas; un ejemplo son los denominados mutantes *knock-out* o «noqueados», en los que se ha conseguido la inactivación selectiva de ciertos genes mediante recombinación homóloga. Además, la introducción de genes en estirpes de ratones que son portadoras de alteraciones genéticas, hace que estos modelos animales puedan utilizarse en los experimentos preliminares de terapia génica. En este sentido se ha logrado corregir, por ejemplo, la deficiencia en la producción de hormona del crecimiento en ratones enanos mediante la transferencia del gen de la hormona del crecimiento, y el hipogonadismo mediante la introducción del gen de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH).

25.5.3 Terapia génica *ex vivo* e *in vivo*

Actualmente, en el ser humano, sólo la terapia génica de células somáticas está siendo abordada por diferentes equipos de investigación. La terapia génica de células germinales, que posiblemente no sólo haría que las enfermedades genéticas se pudieran curar en el paciente tratado, sino que evitaría la transmisión de las mismas a su descendencia, no ha sido abordada todavía, no sólo por los problemas técnicos que conlleva, sino, fundamentalmente, por razones de índole ética.

Las enfermedades monogénicas, ocasionadas por la alteración de un gen que origina un déficit funcional de la proteína correspondiente, se podrían corregir mediante la adición de un gen funcional o la sustitución del gen alterado por el gen normal. En aquellas enfermedades relacionadas con la sobreexpresión anormal de ciertos genes, como ocurre en muchos tipos de cáncer, se podría intentar el bloqueo de la acción de estos genes mediante la introducción de moléculas de ácido nucleico apropiadas que anularían la acción de dichos genes (*terapia antisentido*).

No todas las enfermedades hereditarias son, por el momento, susceptibles de ser tratadas con genes. Para poder

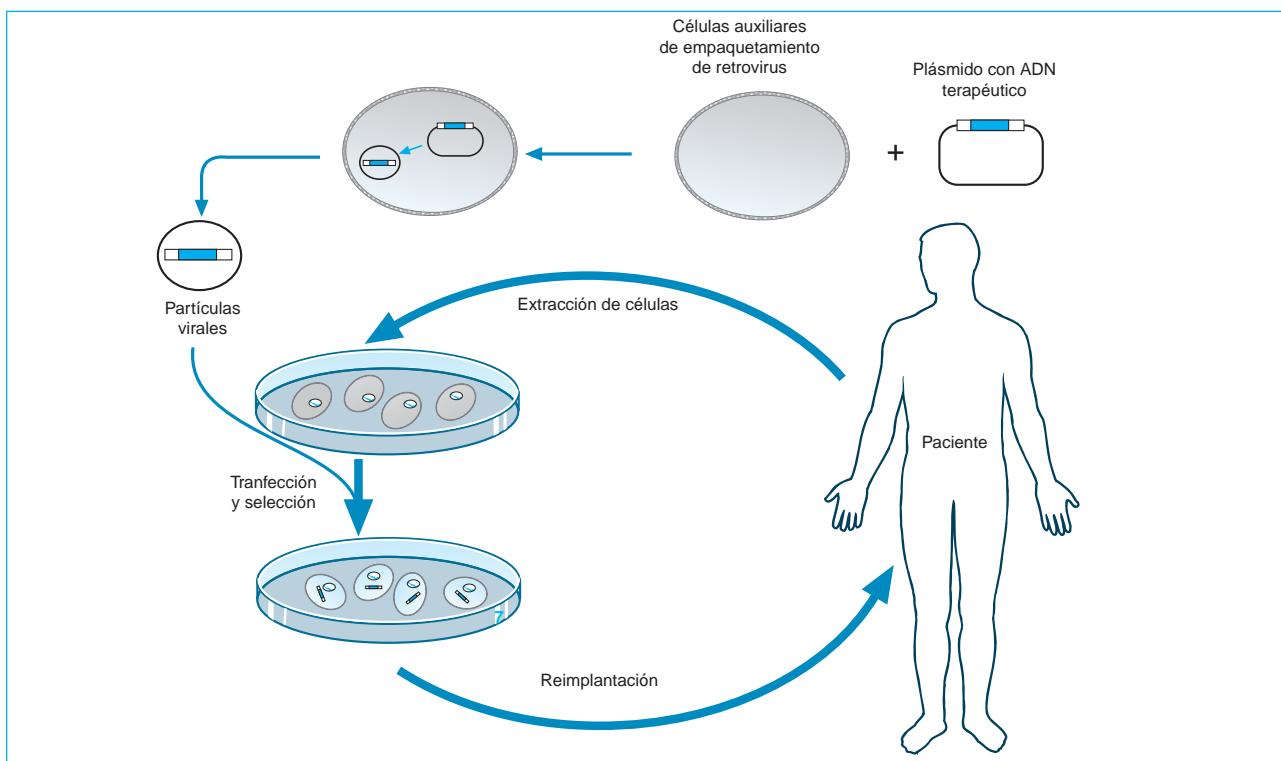


Figura 25-7. Terapia génica ex vivo. Células extraídas de un individuo que sufre una determinada enfermedad genética son transfectadas in vitro por medio de partículas virales modificadas que llevan incorporadas el gen terapéutico de interés. Tras la selección y cultivo de las células que han incorporado el transgén, tiene lugar la administración de las células modificadas al enfermo por la vía más apropiada, con la esperanza, de que una vez reimplantadas, la expresión del gen terapéutico corrija la alteración que padece dicha persona.

para aplicar la terapia génica a una enfermedad son necesarios varios requisitos: que la enfermedad sea grave y no tenga un tratamiento efectivo; que se conozca la causa de la enfermedad a nivel del ADN; y que el gen responsable haya sido aislado y clonado.

En las estrategias de terapia génica *ex vivo* (Fig. 25-7) se necesita, además, disponer de células del paciente que puedan mantenerse en cultivo y que puedan ser transfectadas con el gen terapéutico elegido. También es necesario que las células transformadas puedan ser seleccionadas, amplificadas y reimplantadas en el paciente, que no se observen efectos adversos y que el gen terapéutico se exprese de manera estable. El tipo de célula que se ha de transfectar depende en gran medida del tipo de órgano o tejido donde se expresa normalmente la proteína alterada. Desgraciadamente, no todas las células se pueden cultivar y manipular para ser utilizadas en ensayos de terapia génica *ex vivo*. Las células de la médula ósea, los fibroblastos, los queratinocitos cutáneos, los hepatocitos, las células del endotelio vascular o los linfocitos son las células más apropiadas para los ensayos *ex vivo*.

Una alternativa a la terapia *ex vivo*, en la cual la transfección de las células se lleva a cabo fuera del organismo, es la

terapia *in vivo* (Fig. 25-8), basada en la administración al enfermo por vía sistémica del gen en cuestión, bien, de forma directa o asociado a liposomas, o bien, formando parte de la

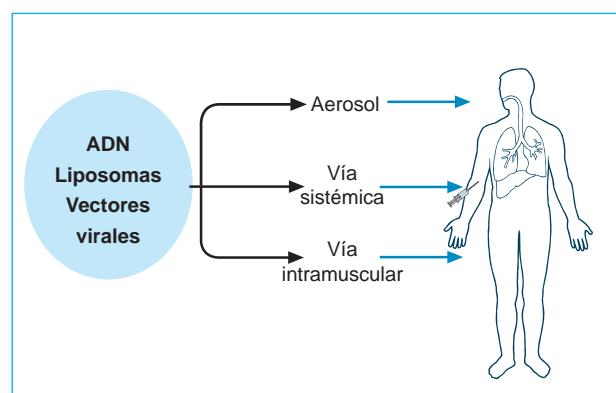


Figura 25-8. Terapia génica *in vivo*. En este caso, al enfermo se le administra por una vía determinada (inyección intramuscular o endovenosa, o en forma de aerosol, por las vías respiratorias) el gen terapéutico, ya sea en forma de liposomas, o asociados a vectores virales adecuados dirigidos al tejido donde se intenta corregir la alteración genética.

Tabla 25-3. Enfermedades susceptibles de terapia génica

Inmunodeficiencias ocasionadas por alteraciones de adenosina desaminasa (ADA) o polinucleótido fosforilasa (PNF)	Enfermedades por almacenamiento del glucógeno
Hemofilia A y B	Enfermedad de Gaucher
Hipercolesterolemia familiar	Diabetes de tipo I
Fibrosis quística	Fenilcetonuria
Enfisema pulmonar	Enfermedad de Tay-Sachs
Anemia falciforme	Galactosemia
Talasemias	Alteraciones del ciclo de la urea
Síndrome de Lesh-Nyham	Enfermedad de Duchenne
	Enfermedad de Huntington
	Cáncer

dotación génica modificada de algún virus (adenovirus, retrovirus o virus herpéticos). En algunos casos, la terapia génica *in vivo* permite dirigir el gen terapéutico hacia un determinado órgano o tejido.

En animales de experimentación se ha podido ensayar con cierto éxito la transferencia de genes a células musculares mediante la inyección de la preparación de ADN en los músculos. Estos resultados son muy interesantes, ya que existe un conjunto de enfermedades genéticas de tipo muscular muy graves, que no tienen un tratamiento adecuado (como la *distrofia muscular de Duchenne*), en las que este tipo de terapia celular podría mejorar la condición muscular de estos enfermos. La introducción de copias normales del gen responsable de la *fibrosis quística* en las células de las vías respiratorias, mediante aerosoles o asociadas a virus modificados de los que producen infecciones respiratorias benignas (como ciertos adenovirus), puede ser otro ejemplo prometedor de terapia génica *in vivo*.

En la Tabla 25-3 se relaciona una serie de enfermedades en las que se puede aplicar la terapia génica. Hay que resaltar que el objetivo de la terapia génica, no es sólo la corrección de las enfermedades hereditarias (por otro lado, minoritarias en la población), pues hay enfermedades adquiridas como el cáncer, responsables de un alto porcentaje de la mortalidad en los seres humanos, que pueden tener en un futuro en la terapia génica una de las herramientas antitumorales más poderosas. En el cáncer, tanto la terapia génica de adición (aporte de copias de genes supresores que han sido inactivados), como la de bloqueo de oncogenes (por medio de terapia antisentido) pueden abrir caminos prometedores en la lucha contra esta devastadora enfermedad. En cualquier caso, aunque la terapia génica no ha conseguido aún los éxitos espectaculares que algunos soñaban, la profundización en los conocimientos aportados por la patología molecular nos hace pensar que la terapia génica incrementará su importancia en un futuro bastante próximo.

RESUMEN

- Las enfermedades genéticas se clasifican en monogénicas, plurigénicas, cromosómicas y multifactoriales.
- Las enfermedades monogénicas, causadas por la alteración de uno o los dos alelos de un gen, se dividen en autosómicas recesivas, autosómicas dominantes y ligadas al sexo.
- La mayoría de las enfermedades monogénicas presentan un patrón de herencia mendeliana y una cierta heterogeneidad alélica.
- Las enfermedades monogénicas están causadas por cambios o mutaciones en la secuencia del ADN de un gen concreto, conociéndose distintos tipos de mutaciones.
- Las más comunes son las mutaciones simples que afectan a uno o muy pocos nucleótidos.
- Las mutaciones puntuales se producen, tanto en secuencias codificantes, como en no codificantes.
- Las mutaciones puntuales se clasifican en sustituciones, delecciones e inserciones en función de que se produzca un cambio de una base por otra, o la pérdida o ganancia de nucleótidos.
- Las sustituciones se clasifican en transiciones y transversiones, de acuerdo con la base sustituida, y en sinónimas y no sinónimas o de cambio de aminoácido (conservadoras, no conservadoras y terminadoras), en función de la repercusión sobre la proteína codificada.
- Las delecciones e inserciones suelen producir cambios en la pauta de lectura que dan lugar a proteínas quiméricas, generalmente, inactivas.
- Las mutaciones dinámicas producen la expansión de triplete que se encuentran repetidos en determinados genes.
- Las enfermedades cromosómicas están relacionadas con alteraciones en el número o la estructura de los cromosomas.
- Las anomalías cromosómicas relacionadas con el número de cromosoma incluyen poliploidías (triploidía y tetraploidía), aneuploidías (monosomías, trisomía) y mixoploidías.
- Las anomalías cromosómicas estructurales se dividen en delecciones (terminales e intersticiales), inversiones, translocaciones (recíproca, céntrica, insercional), formación de cromosomas anulares, etcétera.
- Determinadas enfermedades presentan un patrón de herencia multifactorial compleja, resultado de la interacción de varios genes con factores nutricionales y ambientales.
- Las enfermedades relacionadas con la alteración del ADN mitocondrial presentan un patrón de herencia materna de tipo no mendeliano.
- El grado de expresión fenotípica de determinadas enfermedades genéticas está relacionado con diferencias en la impronta (grado de metilación) de los genes en los cromosomas paterno y materno.
- El conocimiento molecular de las enfermedades hereditarias ha hecho posible el desarrollo de técnicas de diagnóstico molecular y de terapia génica.
- La terapia génica es una estrategia terapéutica encamada a modificar el material genético de células enfermas mediante la administración de ácidos nucleicos.
- La introducción de ácidos nucleicos en células en cultivo puede realizarse por medio de métodos físicos, químicos y biológicos.
- La introducción de un gen foráneo en cigotos o embriones de mamíferos ha posibilitado la obtención de animales transgénicos, de gran utilidad para el estudio de enfermedades genéticas y desarrollo de modelos de terapia génica.
- En los ensayos de terapia génica se utilizan retrovirus y adenovirus modificados como vectores para introducir el gen terapéutico en las células enfermas.
- En seres humanos sólo se ha abordado la terapia génica de células somáticas, utilizando estrategias *in vivo* y *ex vivo*.
- El desarrollo de técnicas de terapia utilizando moléculas de ARN antisentido, puede ser de gran interés para el tratamiento de enfermedades como el cáncer, relacionadas con la expresión de genes no deseados (oncogenes) en células somáticas.

EVALUACIÓN

1. (A). Enfermedades monogénicas:
 - a. En las autosómicas recesivas, el fenotipo anormal se manifiesta en la condición de heterocigosis.
 - b. Las autosómicas dominantes pueden estar relacionadas con una ganancia de función.
 - c. Sólo son transmitidas por la madre.
 - d. Las que afectan al ADNmt presentan un patrón de herencia no mendeliano.
 - e. Hay más de una respuesta correcta.

a b c d e

2. (B). Mutaciones puntuales y enfermedades monogénicas:
 1. Los dinucleótidos CpG son sitios hipermutables.
 2. El cambio de C por T es una transversión.
 3. La supresión de dos nucleótidos en una secuencia codificante puede alterar la pauta de lectura.
 4. El cambio de G por T es una transición.

a b c d e

3. (A). Enfermedades cromosómicas:
 - a. En las aneuploidías hay translocaciones de unos cromosomas a otros.
 - b. En la triploidía existen nueve unidades del cromosoma 21 por célula.
 - c. La monosomía del X se conoce como síndrome de Turner.
 - d. La trisomía del 21 es un tipo de poliploidía.
 - e. Hay más de una respuesta correcta.

4. (B). Enfermedades hereditarias:
 1. La enfermedad de Huntington se produce por amplificación de tripletes.
 2. La anemia falciforme es el resultado de una sustitución.
 3. Inserciones y delecciones de secuencias largas en el gen de la distrofina originan la distrofia muscular de Duchenne.
 4. El *locus* frágil del X se origina por la trisomía de dicho cromosoma.

a b c d e

5. (B). Enfermedades mitocondriales:
 1. Todas las proteínas mitocondriales están codificadas por ADN mitocondrial.
 2. La coexistencia de poblaciones diferentes de ADNmt se conoce como heteroplasmia.
 3. La tasa de mutación del ADNmt es menor que la del nuclear.
 4. La herencia del ADNmt es de tipo materno.

a b c d e

6. (B). Son enfermedades monogénicas:
 1. La fenilcetonuria.
 2. La fibrosis quística.
 3. La enfermedad de Kennedy.
 4. El síndrome de Down.

a b c d e

7. (A). Enfermedades genéticas y mutaciones:
 - a. Todas las mutaciones puntuales producen una situación patológica.
 - b. Determinadas mutaciones puntuales que afectan a la 3.^a base del codón son mutaciones silenciosas.
 - c. La inserción de un nucleótido puede originar un desplazamiento de la pauta de lectura.
 - d. Las amplificaciones de tripletes nunca se producen en las zonas codificantes.
 - e. Hay más de una respuesta correcta.

8. (C). La metilación de C en las secuencias CpG incrementa la posibilidad de generar una mutación puntual POR-QUE la desaminación de mC es un proceso espontáneo y la reparación del par T-G es un acontecimiento poco probable.

a b c d e

9. (A). Transgénesis y terapia génica:
 - a. Un transgén es una secuencia reguladora que actúa en *trans*.
 - b. En la terapia *ex vivo* se transfecan células obtenidas de un individuo que después se vuelven a implantar.
 - c. La mayoría de las enfermedades genéticas son susceptibles de terapia génica.
 - d. La transfección por medios químicos es más específica que la mediada por virus.
 - e. Con la terapia antisentido se pretende expresar proteínas que inactiven enzimas específicas.

10. (B). Alteraciones monogénicas:
 1. Determinados heterocigotos son portadores de la enfermedad, pero no la padecen.
 2. Las ligadas al cromosoma X sólo las padecen las mujeres.
 3. Diversas formas mutadas de un gen pueden originar un fenotipo similar.
 4. Las mutaciones en los intrones no producen enfermedades por no ser zonas codificantes.

a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Buxbaum JN: Diseases of protein conformation: what do in vitro experiments tell us about in vivo diseases? *TiBS* 2003; 28: 585-592.
- Cattaneo E, Rigamonti D, Zuccato C: Enfermedad de Huntington. *Inv y C* 2003; febrero: 26-31.
- Hyman SE: Diagnóstico de las enfermedades mentales. *Inv y C* 2003; noviembre: 50-57.
- Javitt DC, Coyle JT: Bases moleculares de la esquizofrenia. *Inv y C* 2004; marzo: 26-39.
- Lavorgna G, Dahary D, Lehner B *et al*: In search of antisense. *TiBS* 2004; 29: 88-94.
- Lozano JA (ed.): *Aspectos moleculares en las patologías metabólico-genéticas*. Madrid. Fundación Ramón Areces, 1990.
- Verma IM: Terapia génica. *Inv y C* 1991; enero: 24-32.

SECCIÓN VI

BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR

- Capítulo 26:** Modificación postraduccional y tráfico intracelular de proteínas
- Capítulo 27:** Aspectos moleculares del crecimiento y la diferenciación celular
- Capítulo 28:** Bioquímica de los virus
- Capítulo 29:** Cáncer. Aspectos moleculares

MODIFICACIÓN POSTRADUCCIONAL Y TRÁFICO INTRACELULAR DE PROTEÍNAS

26.1 INTRODUCCIÓN

En la síntesis de la mayoría de las proteínas de los eucariotas participan los ribosomas citosólicos (libres o asociados al RE) y sólo unas pocas, codificadas por los genomas de las mitocondrias y los cloroplastos, son sintetizadas por los ribosomas intraorganulares (véase el Cap. 21). Las proteínas solubles del citoplasma, como las enzimas glicolíticas, por ejemplo, se sintetizan en los ribosomas citosólicos libres. El resto, como muchos receptores y otras proteínas integrales de la membrana plasmática, las enzimas nucleares ADN y ARN polimerasa o las hidrolasas lisosomales, entre otras, han de llegar a su destino para ejercer su función biológica. A partir de los trabajos pioneros de George Palade (Premio Nobel de Medicina en 1974) y los posteriores de Günter Blobel (Premio Nobel de Medicina de 1999), hoy sabemos que las proteínas cuyo destino final no es el citoplasma, tienen señales y sufren modificaciones que les proporcionan etiquetas de clasificación para dirigirlas hasta su orgánulo de destino.

Muchas proteínas circulan desde el citoplasma hasta la membrana plasmática o los lisosomas, pasando por el RE y el Golgi, o se quedan retenidas en alguno de esos orgánulos. Otras son secretadas por las células al medio extracelular. Todas ellas se sintetizan en los polirribosomas que están unidos al RE. Estas proteínas transitan por la denominada *ruta o vía biosintética-secretora*. Durante este tráfico intracelular, los distintos compartimentos celulares que la proteína va atravesando constituyen las diferentes *dependencias de una cadena de montaje* que la célula emplea para producir proteínas funcionales. Por eso, debido a que las modificaciones posttraduccionales van íntimamente ligadas al tráfico intracelular, en este capítulo, describiremos los procesos de maduración de las proteínas de nueva síntesis mientras transitan por la ruta secretora, haciendo más hincapié en los mecanismos generales de plegamiento, modificación y conjugación de proteínas complejas.

Las proteínas que no siguen la ruta secretora, se sintetizan en los ribosomas citosólicos libres. Son las proteínas citosólicas y las destinadas al núcleo, peroxisomas, mitocondrias o cloroplastos (en el caso de las células vegetales). La Figura 26-1 esquematiza estas rutas excluyentes que siguen

las proteínas eucarióticas de nueva síntesis y que se describen a lo largo del capítulo.

26.2 TRANSPORTE INTRACELULAR DE LAS PROTEÍNAS

La célula emplea esencialmente tres mecanismos de transporte diferentes para dirigir las proteínas a su destino. Uno de ellos es específico para las proteínas nucleares y los otros dos, la translocación o transferencia de proteínas a través de membrana y el transporte vesicular, son fenómenos comunes para el resto de los destinos subcelulares.

El transporte de proteínas al núcleo es un proceso bidireccional altamente regulado. Transcurre a través de poros acuosos complejos compuestos por más de 100 proteínas que atraviesan la doble membrana nuclear. Las proteínas nucleares, como las histonas, atraviesan estos poros cuando ya están plegadas, es decir, con su conformación madura adquirida. El poro permite el paso regulado, incluso de estructuras supramoleculares, como ribosomas recién ensamblados.

La translocación de proteínas desplegadas a través de la membrana es el mecanismo de transporte que dirige las proteínas desde el citoplasma al RE, las mitocondrias y los peroxisomas. En el RE se facilita la entrada de proteínas de la ruta secretora al lumen para que comience la modificación de las mismas. En las mitocondrias y los peroxisomas es el medio de transporte que emplean las proteínas que han sido sintetizadas en el citoplasma para su entrada en el orgánulo. El destino de las proteínas viene determinado por un fragmento de la secuencia del polipéptido, conocido como «señal». Por eso, las proteínas que no llevan ninguna señal específica se quedan en el citoplasma, de modo que el citoplasma se puede considerar la localización por defecto. Cuando la secuencia de la proteína contiene una señal, ésta dirige al polipéptido de forma excluyente, a la ruta secretora, a las mitocondrias, los peroxisomas o el núcleo. La señal está determinada en la secuencia de la proteína naciente, y es necesaria para entrar en el orgánulo de destino. Puede ser de dos tipos: región señal o secuencia señal.

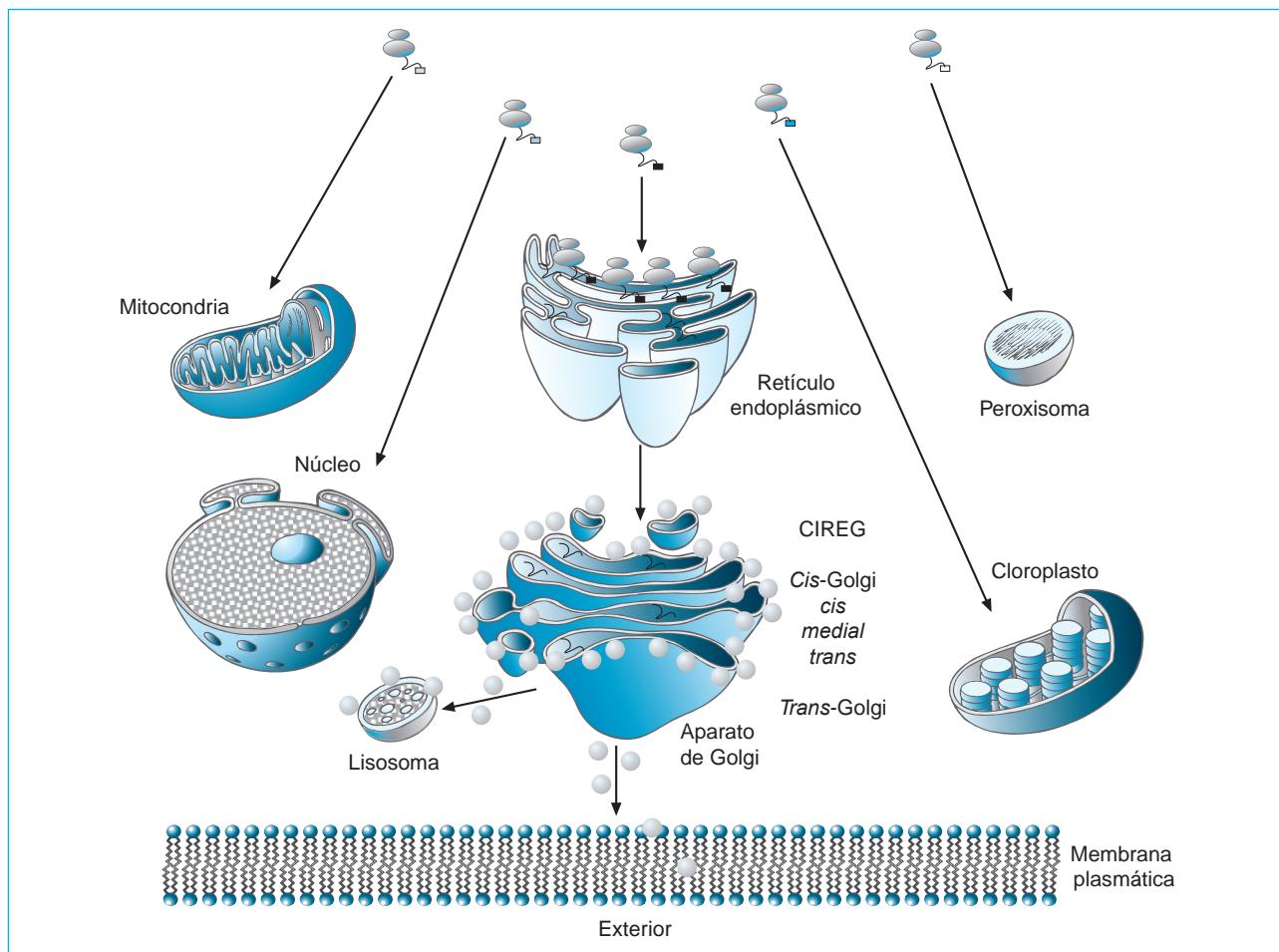


Figura 26-1. Esquema de las diferentes rutas de síntesis de proteínas en función del orgánulo de destino. Las proteínas mitocondriales, nucleares, peroxisómicas y de los cloroplastos vegetales se sintetizan en los ribosomas citosólicos, aunque un pequeño número de proteínas de la mitocondria y el cloroplasto se sintetizan en el interior del orgánulo. Las proteínas del RE, Golgi, lisosomas, membrana plasmática y de secreción, es decir, de la ruta biosintética secretora, son sintetizadas por los ribosomas del RE rugoso. (RE: retículo endoplásmico; Golgi: aparato de Golgi; CIREG: cisternas intermedias entre el RE y el Golgi.)

La *región señal* está constituida por un conjunto de aminoácidos, generalmente alejados en la estructura primaria, pero que quedan cerca en la estructura terciaria. Es, por tanto, una señal dependiente de conformación. Suele identificar enzimas hidrolíticas ácidas lisosomales y algunas proteínas nucleares.

La *secuencia señal* es una secuencia continua de la proteína, entre 15 y 60 aminoácidos generalmente, que se utiliza, tanto para enviar las proteínas desde el citoplasma hasta el RE, núcleo, mitocondrias o peroxisomas, como para retenerlas en algunos orgánulos, como el RE y el Golgi. Esta señal es reconocida por la maquinaria de translocación de la membrana del orgánulo. Las características conformativas son mucho menos importantes que en el caso de la región señal. Incluso la estructura primaria precisa es, hasta cierto punto, poco deter-

minante, ya que los aspectos esenciales en la función del péptido señal parecen ser propiedades físicas como la hidrofobicidad y distribución de cargas. No obstante, existen algunos consensos en función del orgánulo de destino:

- La mayoría de las *proteínas mitocondriales* tienen en su extremo amino terminal un péptido de unos 25 aminoácidos en el que se alternan residuos básicos (R o K) e hidrofóbicos (también aparecen a menudo S y T). Otras, proteínas hidrofóbicas de membrana, contienen la señal en alguna zona más interna de la secuencia. Ambas son translocadas al interior de la mitocondria de modo postraduccional a través de dos complejos de translocación: el de la membrana externa (TOM) y el de la membrana interna mitocondrial (TIM). Estos sis-

temas de transporte son bidireccionales, ya que las mitocondrias, además de importar proteínas sintetizadas en el citoplasma, exportan proteínas sintetizadas por sus propios ribosomas, empleando los mismos sistemas de translocación.

- Las *proteínas peroxisómicas* (la mayoría de ellas relacionadas con el metabolismo de los lípidos) poseen dos tipos de señal: el tripéptido SKL en la zona carboxilo terminal (señal PTS1), o bien, un nonapéptido interno llamado PTS2. Ambas señales son reconocidas y translocadas a la matriz del peroxisoma mediante un complejo multiproteico que, al igual que en el caso de los poros de transporte de proteínas nucleares, forma un enorme poro que permite el paso de proteínas completamente plegadas e, incluso, de oligómeros.
- Las *proteínas nucleares*, también contienen señales de importación al núcleo. Están ubicadas en lugares internos de la proteína, son secuencias de unos 5-10 aminoácidos con predominio de residuos básicos, reconocidos por receptores de transporte nucleares de la familia de las importinas.
- La secuencia señal para las *proteínas de la ruta biosintética-secretora* es normalmente una secuencia de 20-25 aminoácidos, también llamada *péptido señal* o *secuencia líder* por su posición amino terminal. Normalmente poseen algún residuo básico (R o K) seguidos de 5-15 aminoácidos hidrofóbicos y de otros de cadena lateral corta como G o A. Por otro lado, aquéllas que van a permanecer en el lumen del RE tienen una secuencia adicional en el carboxilo terminal: secuencia -KDEL-, y las que están asociadas a la membrana de este orgánulo llevan la secuencia -KKXX- en el extremo C-terminal citosólico. Las proteínas de membrana dirigidas hacia el Golgi llevan en su extremo carboxilo terminal citosólico una señal diálica del tipo -DXE-. Las que se van a los endosomas tardíos tienen generalmente en su extremo citosólico C-terminal algunos aminoácidos fosforilables (S o T).
- El *transporte vesicular* es el mecanismo de transporte que regula gran parte de la ruta biosintética-secretora. Las vesículas de transporte cargan las proteínas en un orgánulo de la ruta y las descargan en otro, mediante un proceso de gemación y fusión general en el que intervienen proteínas de las familias NSF, SNAP y SNARE, entre otras, que median un reconocimiento específico entre la vesícula de transporte y el orgánulo de destino. En efecto, las membranas de las vesículas están recubiertas por unos complejos multiproteicos diferentes, en función del orgánulo de origen y destino de la vesícula, y por eso se llaman revestidas. El lumen de las vesículas es topológicamente equivalente al del

orgánulo con el que se fusiona. Por eso, las proteínas conservan su orientación relativa desde el momento en que se translocan al RE, durante su tránsito por el Golgi y en las vesículas hasta llegar a los lisosomas o la membrana plasmática.

26.3 LA RUTA BIOSINTÉTICA-SECRETORA

Esta ruta de clasificación de proteínas es muy importante para una gran cantidad de tipos celulares, como los hepatocitos, las células acinares pancreáticas, las de la glándula mamaria o del lóbulo anterior de la hipófisis; en definitiva, para todos los tejidos exocrinos y endocrinos. Entre el 50-70% de las proteínas que sintetizan estas células son proteínas de secreción, como la albúmina y transferrina en el caso del hígado, las proenzimas digestivas pancreáticas, la caseína y la lactoalbúmina mamaria, o la hormona corticotropina hipofisaria. El resto de las células, aunque en menor medida, también secretan algunas proteínas, como el colágeno, la fibronectina y los proteoglicanos, que forman parte de la matriz extracelular y constituyen un 5% del total de proteínas sintetizadas. Pero, en cualquier caso, la ruta es importante en todos los tipos celulares porque garantiza la dotación de proteínas del RE, Golgi, los lisosomas y la membrana plasmática. Por tanto, su funcionamiento es vital para cualquier célula eucariótica.

26.3.1 Translocación de proteínas al RE

Translocación cotraduccional.

Reconocimiento y proteólisis del péptido señal

La síntesis de las proteínas de secreción comienza en los ribosomas libres del citoplasma. Los primeros residuos del polipéptido naciente constituyen el péptido señal y, por tanto, la señal de importación al RE. Pero la translocación no ocurre hasta que el péptido no tiene unos 70-75 aminoácidos. Una ribonucleoproteína multimérica citoplasmática denominada *partícula de reconocimiento de la señal*, PRS, reconoce y se une al péptido señal emergente y a la subunidad grande del ribosoma. Simultáneamente se detiene la traducción (Fig. 26-2).

La PRS (325 kDa) está constituida por seis subunidades proteicas y un ARN citosólico pequeño (300 bases). Una de las subunidades proteicas, denominada P54, constituye el nexo entre la proteína naciente y la membrana del retículo, ya que interacciona simultáneamente con la zona hidrofóbica del péptido señal y con una proteína heterodimérica de la membrana del RE: el *receptor de la PRS* o proteína de anclaje (Fig. 26-2). Otra proteína presente en la PRS posee actividad GTPasa. La

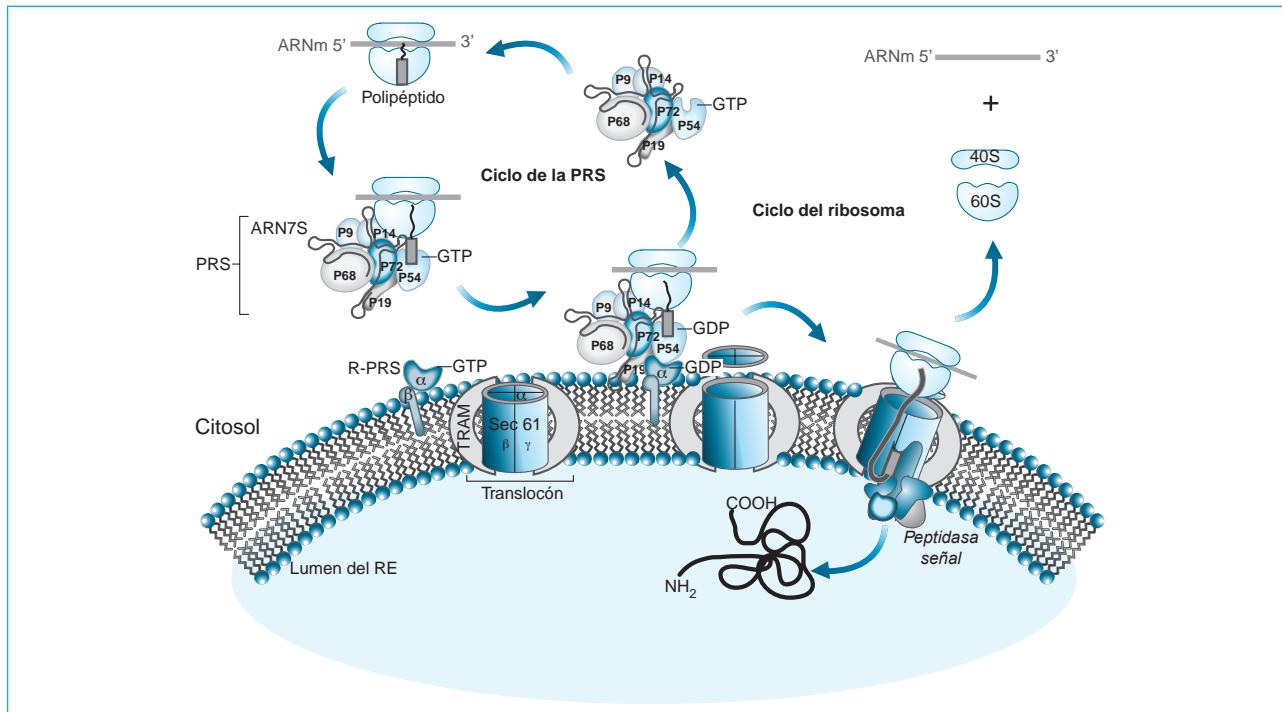


Figura 26-2. Translocación cotraduccional de proteínas de la ruta secretora al RE. El polipéptido emergente del ribosoma es reconocido por la PRS, que interacciona con él a través de P54. La traducción se detiene. El receptor de la PRS (en la membrana del RE) sirve de anclaje al complejo y la unión promueve la hidrólisis de dos GTP y la apertura del poro del translocón. El polipéptido se inserta por el translocón, a la vez que se reanuda la traducción. En algunos casos, la peptidasa señal del lumen del RE digiere el péptido señal. Dos ciclos de reciclaje se establecen en este proceso: por un lado, el de la PRS y, por otro, el del ribosoma. (PRS: partícula de reconocimiento de la señal; R-PRS: receptor de la PRS o proteína de anclaje; scRNA7S: RNA citosólico pequeño.)

hidrólisis del GTP proporciona la energía necesaria para impulsar el proceso. Asociado a la membrana del RE, existe un complejo multiproteico denominado *translocón* (Fig. 26-2). Está formado por varias proteínas que se disponen formando un poro que atraviesa la membrana del RE. En reposo, el translocón se mantiene cerrado por uno de sus componentes, la proteína Sec61 α . Cuando el complejo formado por el ribosoma-péptido señal-PRS se une al receptor de PRS y al translocón, se hidrolizan dos GTP, ocurre la separación de la PRS del péptido señal, la separación del receptor de la PRS del translocón y la apertura del translocón (Fig. 26-2). Sin embargo, el péptido naciente unido al ribosoma por su parte citoplasmática, permanece también asociado al translocón por el interior del poro. La energía de hidrólisis liberada impulsa la transferencia del péptido señal por el canal. La PRS y su receptor se reciclan para iniciar la interacción con otras cadenas nacientes. Este mecanismo de reciclaje se conoce como *ciclo de la PRS*. Cuando el péptido señal y unos 30 residuos más se introducen por el poro del translocón se reanuda la traducción, que se completará en el seno del complejo, sin que el polipéptido creciente se separe del translocón.

En la cara luminal del RE e interaccionando con el translocón se encuentra la *peptidasa de la señal*, que reconoce y corta el péptido señal (de forma cotraduccional). Inmediatamente, éste es degradado hasta aminoácidos en el lumen del RE. El sitio de corte de las proteínas importadas al RE viene precedido en -1 y -3 por aminoácidos pequeños y sin carga. Al terminar la síntesis de la proteína, el ribosoma se disocia y el complejo de traducción se desorganiza (ciclo del ribosoma, véase el Cap. 21).

Translocación postraduccional

Algunas proteínas eucarióticas son dirigidas al RE de forma postraduccional, es decir, una vez terminada la síntesis en el citoplasma. El proceso se verifica, como en el caso anterior, a través del translocón. Puesto que el poro del translocón tiene un diámetro mucho menor que el de los poros peroxisómicos o nucleares, las proteínas no pueden atravesarlo en forma globular plegada y deben hacerlo en forma desplegada. Así, la principal diferencia con la inserción cotraduccional es que son necesarias proteínas que mantengan al polipéptido naciente en una conformación desplegada (Fig.

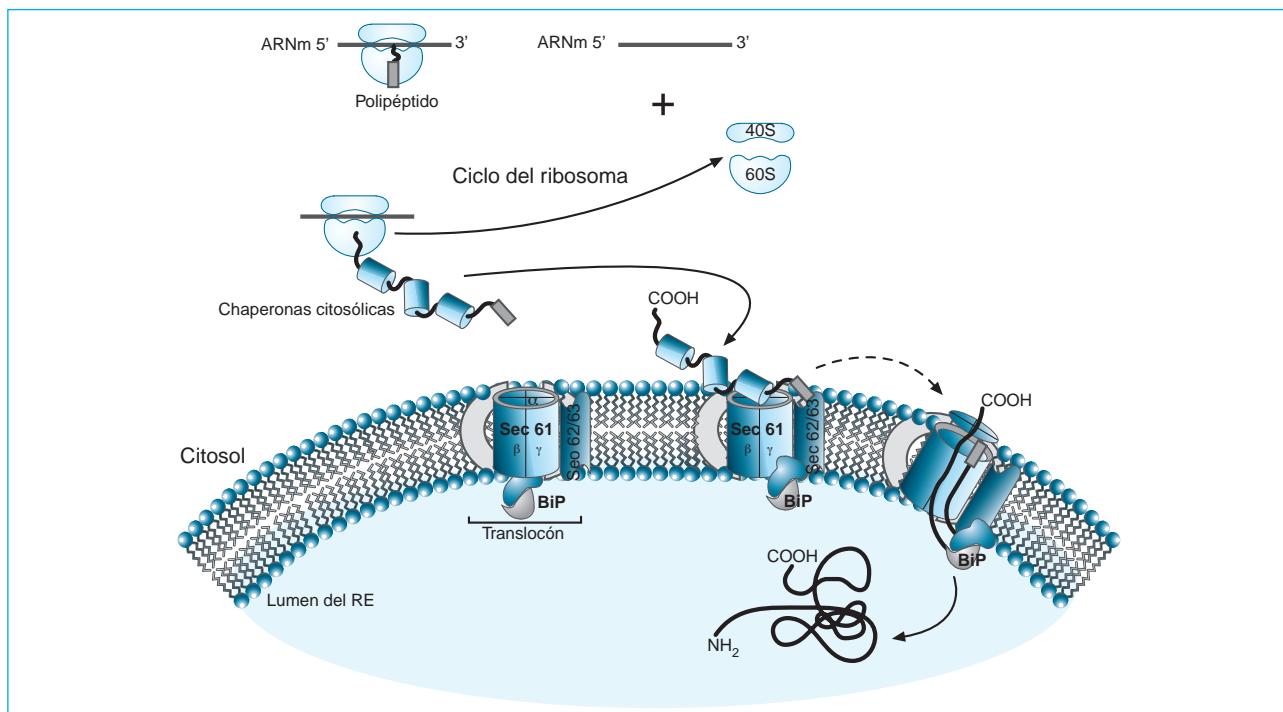


Figura 26-3. Translocación postraduccional de proteínas de la ruta secretora al RE. La traducción finaliza en el citosol y unas chaperonas mantienen el polipéptido naciente en estado desplegado. La inserción a través del traslocón ocurre cuando ha terminado la traducción y en ella también participa una chaperona intraluminal del RE: BiP. Los ribosomas se reciclan para comenzar un nuevo ciclo.

26-3). Estas proteínas son las *chaperonas*. La inserción en el RE no emplea PRS ni su receptor. En cambio, la secuencia señal se reconoce por una proteína transmembrana llamada *Sec62/63* que está asociada con *Sec61* en el RE. Además, en la cara luminal del translocón, y cerrando el poro, una chaperona del RE, llamada *BiP*, ayuda a la translocación del péptido, uniéndose a regiones hidrofóbicas de la proteína para mantenerla desplegada hasta que se libere en el RE.

Inserción de las proteínas transmembrana

La liberación en el lumen del RE sólo ocurre en el caso de proteínas solubles de secreción. Las proteínas integrales de membrana (plasmática o de algún orgánulo), se insertan en la membrana del RE preservando la topología que tendrán en su ubicación definitiva, tenga una o varias regiones transmembrana (véase la Fig. 10-4).

La inserción depende de *secuencias topogénicas específicas*, *secuencias de inserción y fijación* a la membrana y *secuencias de detención de la transferencia y fijación*. A diferencia del péptido señal, las secuencias de inserción y de detención son internas (véase la Fig. 10-4), pero también se reconocen por la PRS y el complejo de translocación. Se unen al aparato de translocación en cualquiera de las dos

direcciones, y esto determinará la orientación de la proteína. Las proteínas con varios fragmentos transmembrana se insertan en la misma dirección en que se sintetiza la proteína, ya que la PRS busca los fragmentos hidrofóbicos de la cadena polipeptídica desplegada, empezando por el extremo amino terminal y progresando hacia el carboxilo terminal.

26.3.2 Adquisición de la conformación madura

Formación de puentes disulfuro

Las proteínas liberadas en el interior del RE tienen que adquirir su estructura tridimensional nativa. La formación de enlaces disulfuro entre residuos de cisteína de una misma cadena polipeptídica o de cadenas distintas, es una de las modificaciones covalentes que contribuyen a mantener la conformación tridimensional estable de una proteína (véase el Cap. 7). Esta reacción puede transcurrir de forma espontánea en un medio oxidante. Las proteínas de secreción y aquéllas que forman parte de las membranas suelen tener puentes disulfuro en su estructura, que las estabilizan. Sin embargo, en las proteínas citosólicas no abundan los puentes disulfuro. El ambiente oxidante del lumen del RE es propicio para la formación de esos enlaces, a diferencia del reductor del citoplasma. El tripéptido

glutatión es el agente redox en la reacción de formación de enlaces disulfuro. Esta molécula tiólica está en equilibrio entre la forma reducida y la oxidada ($\text{GSH} \leftrightarrow \text{GS-SG}$) y, en el citoplasma, el equilibrio está muy desplazado a la izquierda, en una proporción del orden de 50:1, de manera que no favorece la formación de enlaces entre cisteínas. Sin embargo, en el lumen del RE, la cantidad de glutatión oxidado y la *proteína disulfuro isomerasa (PDI)* favorecen la formación de los enlaces disulfuro correctos, tanto intercatenarios como intracatenarios.

La formación de estos enlaces es cotraduccional. Algunas proteínas tienen más de un puente disulfuro y éstos se establecen de manera secuencial, es decir, a medida que aparecen dos Cys consecutivas se unen covalentemente. A veces, las Cys que han de formar el puente no son consecutivas, sino alternas. En estos casos, la *proteína disulfuro isomerasa* contribuye a formar los enlaces correctos a través de un intermediario enzima-sustrato transitorio. Esta enzima es muy abundante en el RE de las células de tejidos secretores como hígado y páncreas, e interviene en la conformación definitiva de muchas proteínas de secreción, como la insulina.

Participación de peptidilprolil isomerasas, chaperonas y lectinas

Muchas proteínas de secreción o de membrana están formadas por dos o más subunidades. Estas proteínas oligoméricas se ensamblan en el RE, y su estructura cuaternaria depende a menudo de la formación de puentes disulfuro. Además de la *PDI*, otras proteínas contribuyen a su plegamiento y ensamblaje. Las principales son las *peptidilprolil isomerasas*, las *chaperonas* de las familias Hsp70 y Hsp90 y las lectinas calnexina y calreticulina (véase más adelante). Sólo las proteínas que están correctamente plegadas y ensambladas son transportadas desde el RE hasta el Golgi y, posteriormente, hasta los lisosomas o la membrana plasmática. Por eso, el RE es el orgánulo en el que se realiza el *control de calidad* del polipéptido.

Las *peptidilprolil isomerasas (PPIasas)* constituyen una familia de proteínas presentes en la mayoría de los organismos, tanto en el citoplasma, como en distintos orgánulos. Son enzimas solubles o de membrana que aceleran la rotación alrededor de los enlaces peptidilprolilo en las zonas no plegadas del polipéptido. Alrededor del 6% de este tipo de enlace peptídico tiene configuración *cis*, y dado que la isomerización de *cis* a *trans* y viceversa es el paso que limita la velocidad de plegamiento de los dominios proteicos, las *PPIasas* contribuyen decisivamente al plegamiento.

La familia de las *chaperonas* media procesos de ensamblaje y de plegamiento de proteínas. La unión de las chaperonas a las proteínas estabiliza las formas no plegadas e impide el plegamiento incorrecto o la formación de agregados. Muchas de las proteínas de esta familia fueron identificadas inicialmente

como proteínas de choque térmico, ya que se inducían en respuesta a una hipertermia para evitar la desnaturización de otras proteínas. Las chaperonas residentes en el lumen del RE pertenecen a las familias de *Hsp70* y de *Hsp90*. Estas chaperonas actúan uniéndose a una pequeña región hidrofóbica del péptido que emerge en el lumen del RE de forma desplegada. La interacción de la chaperona con la proteína estimula la actividad *ATPasa* de la primera, que da lugar a la disociación del complejo. El plegamiento de la proteína se logra por múltiples ciclos de asociación-disociación con las chaperonas. Una vez que la proteína ha adquirido el plegamiento correcto, pierde afinidad por la chaperona, que la deja libre para proseguir su camino. También, algunas chaperonas como BiP se unen a las proteínas mal plegadas o mal ensambladas por regiones hidrofóbicas que no están expuestas en la conformación correcta de la proteína. Esta interacción evita la agregación de las proteínas mal plegadas, que se produciría por interacciones intermoleculares entre las regiones hidrofóbicas expuestas en la conformación incorrecta de la proteína. Por tanto, las chaperonas realizan dos funciones importantes: contribuyen al plegamiento y al ensamblaje correcto y se unen a las proteínas mal plegadas, impidiendo el flujo hacia el Golgi.

Las mutaciones puntuales en las proteínas de la ruta secretora que impiden su plegamiento correcto causan un bloqueo de su traslado al Golgi y a las vesículas de secreción. Una mutación frecuente en individuos de raza caucásica en la *proteína α_i-antiproteasa* y las de algunas enzimas de la ruta de síntesis de las melaninas son ejemplos que ilustran este fenómeno de retención en el RE, con consecuencias patológicas (Recuadro 26-1).

26.3.3 Retención de las proteínas del RE

Las proteínas que han adquirido la conformación nativa en el RE se transportan al Golgi en vesículas no selectivas que acarrean proteínas con destinos celulares distintos. Una vez en el Golgi, las proteínas procedentes del RE se clasifican en proteínas de membrana/secreción y proteínas lisosomales, o bien, aquéllas que deben volver al RE por tratarse de proteínas residentes en este orgánulo. Estas últimas poseen en su secuencia una señal de residencia en el RE. Por eso, aunque el *transporte vesicular anterógrado* las lleva al Golgi, vuelven al RE. La residencia en el RE está determinada por la secuencia -KDEL- del extremo C-terminal de las proteínas solubles y la secuencia -KKXX- del extremo C-terminal citosólico de las proteínas transmembrana. En el Golgi, un receptor específico de KDEL recupera proteínas solubles que contengan la señal del RE, incorporándolas en *vesículas de transporte retrógrado*. Estas vesículas están revestidas de un complejo proteico llamado *coatómero*, formado por la proteína *COP I* (Fig. 26-4). La energía necesaria

Recuadro 26-1. MUTACIONES QUE AFECTAN AL PLEGAMIENTO Y LA RETENCIÓN EN EL RE

La proteína α_1 -antiproteasa (ATT) es un inhibidor de las proteasas plasmáticas secretado por los hepatocitos y los macrófagos. Al inhibir proteasas producidas por los leucocitos, como la elastasa, evita la destrucción de tejidos sanos en nuestro organismo. Se consideran niveles normales de la proteína ATT en sangre de 150 a 350 mg/dL. Niveles por debajo de 80 mg/dL son indicativos de una deficiencia grave de ATT y se relacionan causalmente con algunas enfermedades como enfisema pulmonar, enfermedad hepática crónica o paniculitis (inflamación de la piel).

La principal causa genética del enfisema pulmonar es la ausencia de

inhibición de la elastasa pulmonar, como consecuencia de una mutación de la ATT (Glu342Lys). Esta mutación puntual ocasiona una acumulación de la proteína en el RE, debido a un plegamiento anómalo, que le impide su progreso por la ruta secretora. La disminución de los niveles de ATT secretada altera el equilibrio entre esta proteína (*antiproteasa*) y la *elastasa* (*proteasa*). Como consecuencia se destruye progresivamente la elastina de las paredes alveolares. Al destruirse los alveolos, los pulmones pierden su elasticidad y, por eso la respiración se hace difícil, apareciendo fatiga y disnea. Los individuos con enfisema pueden presentar otros síntomas, tales como catarros e infecciones pulmonares frecuentes, bronquitis crónica, bronquiectasias, alergias todo el año y asma que no responde a tratamiento.

Algunos tipos de albinismo oculocutáneo, concretamente los tipos 1 y 3, son también enfermedades genéticas autosómicas recesivas caracterizadas por falta de producción de melaninas. Muchas de estas mutaciones causan retención en el RE de las proteínas mutadas, *tirosinasa* y *Tyrl*, respectivamente. El aumento del tiempo de asociación de estas dos proteínas con las chaperonas del lumen del RE constituye la base molecular de muchos casos de albinismo, pues son dos enzimas necesarias para la biosíntesis de pigmento por los melanocitos. Debido a la carencia de pigmento, las personas con albinismo tienen la piel y el pelo con tonalidades que van desde el blanco o amarillo hasta un poco rosáceo. Los ojos suelen ser azules o violáceos y suelen padecer nistagmo (movimiento irregular del ojo), estrabismo («ojos cruzados» o sin coordinación) y sensibilidad a luces brillantes o claras.

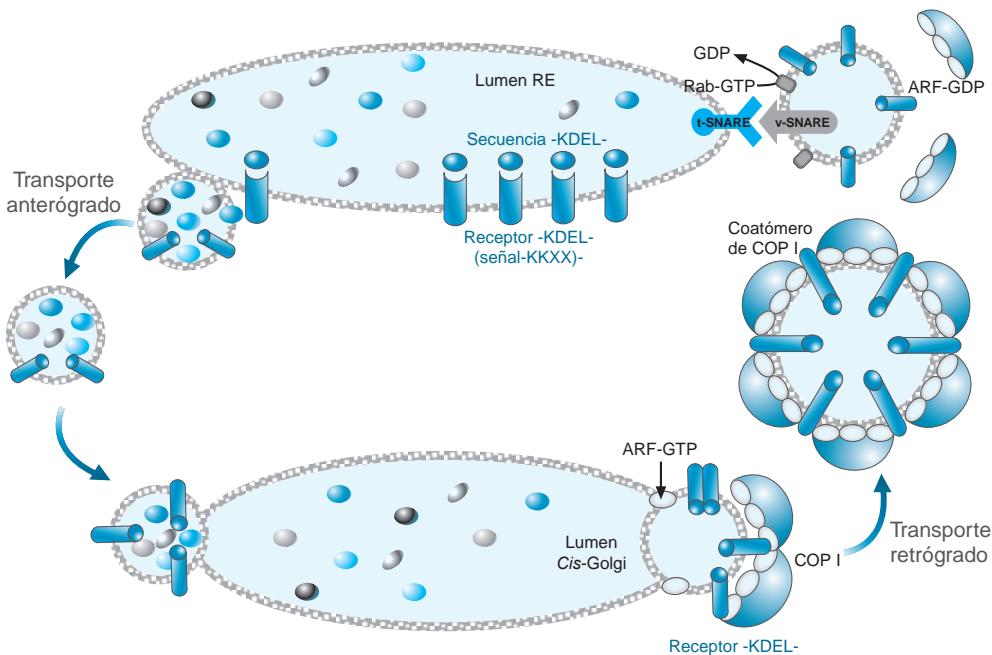


Figura 26-4. Recuperación de proteínas del RE por transporte retrógrado. Algunas proteínas que se cargan en las vesículas de transporte anterógrado de la ruta constitutiva desde el RE al Golgi han de ser devueltas al RE, orgánulo en el que residen. Esto es posible gracias a la secuencia -KDEL-, que tienen las proteínas del RE, que es reconocida por el receptor de KDEL (proteína de membrana del RE). Desde el cis-Golgi emergen unas vesículas de transporte retrógrado que contienen las proteínas que han de ser devueltas al RE. Estas vesículas están recubiertas por un coatómero de COP I que se ensambla alrededor del receptor de KDEL. Tras la despolimerización del coatómero y el reconocimiento específico de la vesícula, ésta descarga su contenido en el RE.

ria para la gemación de la vesícula es proporcionada por la proteína *ARF*, una *GTPasa* que activa la formación del coatómero. La fusión de la vesícula de transporte retrógrado con la membrana del RE, ocurre después de la despolimerización del coatómero de COP I, tras la hidrólisis de GTP. Esta fusión es orgánulo-específica, gracias a un mecanismo de reconocimiento del orgánulo de destino, basado en una familia de proteínas llamadas *SNARE*. La vesícula transportadora tiene unas proteínas transmembrana específicas (v-SNARE) que son reconocidas por unos receptores transmembrana del RE (t-SNARE). La proteína *Rab*, otra *GTPasa* monomérica de la vesícula, hidroliza GTP cuando se unen los dos receptores, y ésa es la señal para que se fusionen las membranas. Así la vesícula descarga las proteínas recuperadas del RE.

26.3.4 Adición de lípidos

Algunas proteínas de la ruta secretora están modificadas con lípidos por uno de los dos mecanismos siguientes: conjuga-

ción con *glucosil-fosfatidil-inositol* (GPI) o acilación de residuos internos Ser, Thr o Cys de proteínas transmembrana.

El *GPI* es un glicolípido de la membrana del RE (Fig. 26-6). Algunas proteínas transmembrana de paso único, tras fijarse a la membrana del RE, intercambian el fragmento transmembrana carboxilo terminal por un ancla de *GPI*. Unas *proteasas* del RE rugoso reconocen una secuencia pequeña adyacente al fragmento transmembrana, por la cara luminal, y cortan la proteína a la vez que la unen covalentemente por el nuevo extremo carboxilo de la proteína al *GPI* de la membrana del RE. La unión consiste en un enlace amida entre el carboxilo de la proteína y el grupo amino de la fosfatidil etanolamina del *GPI* (Fig. 26-5). Este mecanismo de marcaje es frecuente en proteínas dirigidas hacia la membrana apical de células epiteliales polarizadas. Además, permite una mayor movilidad lateral de las proteínas extracelulares a lo largo de la membrana plasmática.

La acilación es un mecanismo de anclaje de proteínas de membrana muy frecuente en la superfamilia de receptores transmembrana de siete hebras (véase el Cap. 12), esenciales

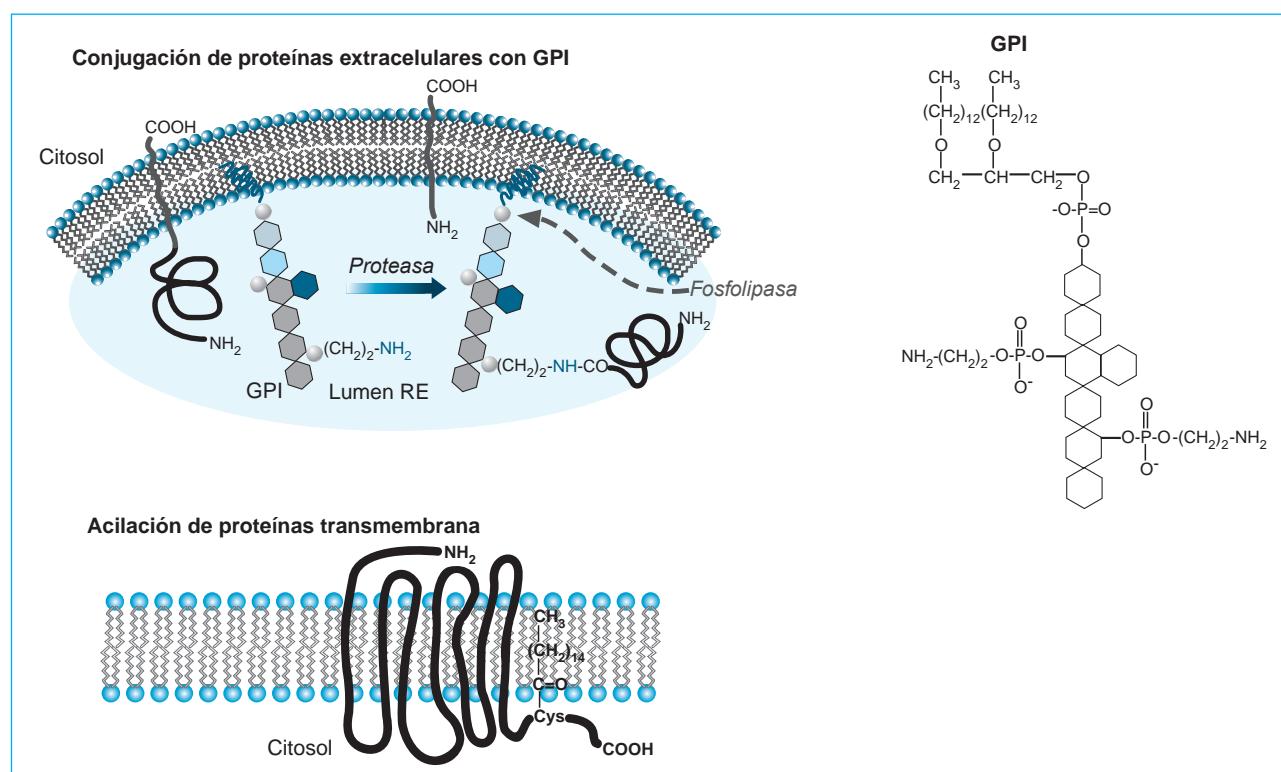
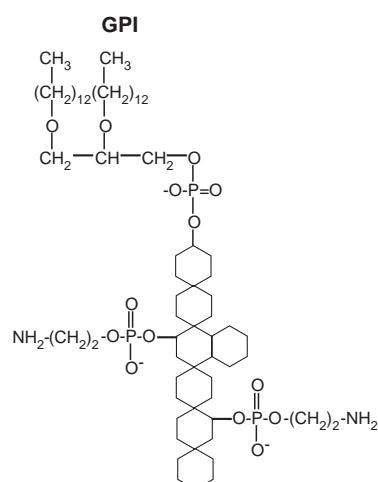


Figura 26-5. Mecanismos de conjugación de proteínas de la ruta secretora con lípidos. El panel superior ilustra la conjugación de proteínas transmembrana con el glicolípido de la membrana del RE, glicosilfosfatidil inositol. Una proteasa corta la proteína transmembrana, eliminándole la hélice hidrofóbica y la une mediante enlace amida al GPI. Algunas de ellas son posteriormente liberadas al lumen del RE cuando una fosfolipasa corta el lípido anclado en la membrana. El panel inferior muestra la inclusión en la membrana de un receptor transmembrana de siete hebras. Además de sus siete hebras hidrofóbicas, la proteína está unida a un lípido de la membrana mediante un enlace tioéster entre una cisteína del extremo carboxilo terminal y un ácido palmítico o mirístico.

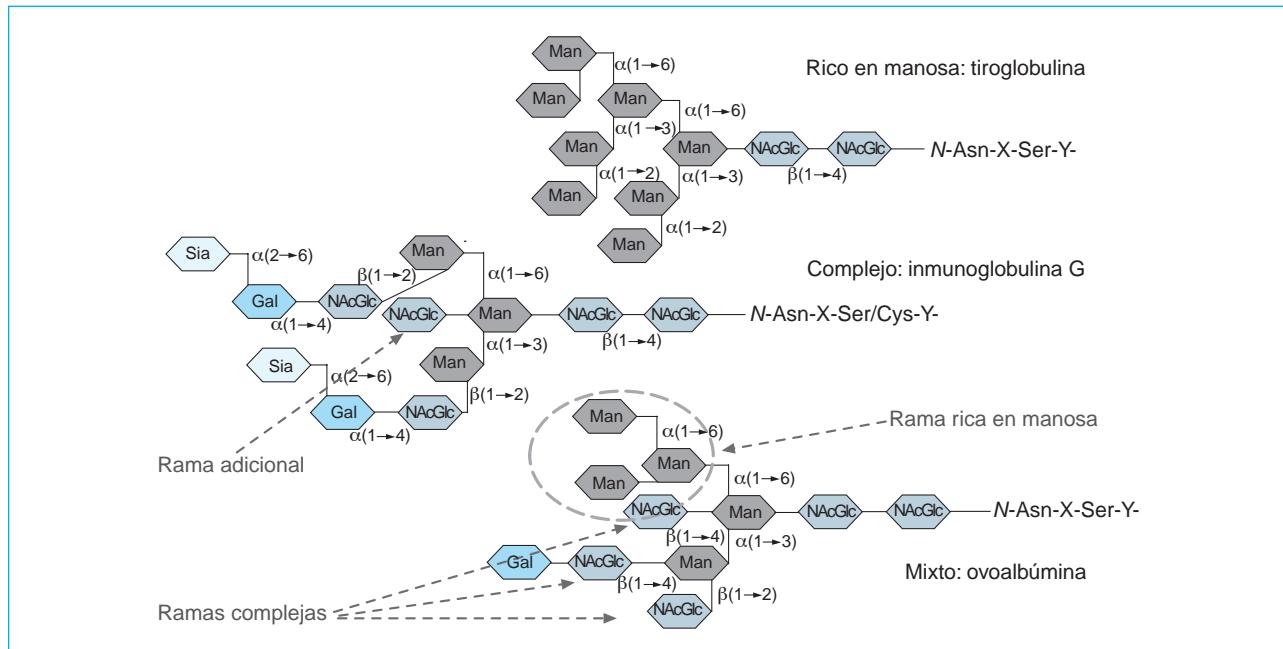


Figura 26-6. Ejemplos de los tres tipos de N-oligosacáridos más comunes. Los N-oligosacáridos presentes en las proteínas de la ruta secretora se pueden englobar en tres tipos: los ricos en manosa, los complejos y los mixtos. Todos ellos tienen un núcleo interno de tres manosas que caracteriza a las proteínas de la ruta secretora. (NAcGlc: N-acetil glucosamina; Man: manosa; Gal: galactosa; Sia: ácido siálico.)

en muchos procesos de señalización intercelular y de recepción de estímulos externos. Estos receptores, a pesar de estar firmemente incluidos en la membrana, a través de siete fragmentos hidrofóbicos, tienen unida la cola carboxilo terminal a un lípido de membrana (Fig. 26-5) que suele ser el ácido mirístico (14 C) o el ácido palmítico (16 C). Una *acil transferasa* cataliza la formación de un enlace tioéster entre el carboxilo del ácido graso y la cadena lateral de Cys del fragmento C-terminal citosólico de la proteína.

Merece la pena hacer mención aquí, por el alcance que pueda tener en la práctica clínica, de otro tipo de conjugación con lípidos, de proteínas que no provienen de la ruta secretora sino que, por el contrario, son citosólicas. Algunas proteínas citosólicas están asociadas a la cara citoplasmática de la membrana plasmática, a través de un ácido graso (ácido mirístico o palmítico). Algunas de estas proteínas, como la proteína *Ras*, están simultáneamente palmitoiladas y preniladas (unida a un hidrocarburo farnesilo o geranilgeranilo). La palmitoilación se establece mediante un enlace tioéster, formado entre el grupo tiol de una cisteína del C-terminal y el carboxilo de un ácido palmítico. Además, unas *prenil transferasas* específicas unen otra cisteína terminal de la proteína con el grupo farnesilo a través del enlace tioéster. *Ras* interviene en rutas de transducción relacionadas con la proliferación celular (véase el Cap. 27), siendo la farnesilación el paso limitante para su activación, de

manera que la proteína no farnesilada es inactiva. Algunas formas mutadas de *Ras* son oncogénicas y parecen estar relacionadas con la aparición de distintos tipos de cáncer. Puesto que el anclaje a la membrana es requerido para la funcionalidad de *Ras*, el conocimiento de los mecanismos de anclaje está abriendo la puerta a tratamientos alternativos a la radioterapia y quimioterapia convencionales, ya que se ha comprobado recientemente que el uso de inhibidores de la *farnesil transferasa* inhibe la señalización por *Ras* y tiene efectos antitumorales. De hecho, alguno de estos inhibidores se encuentra ya en avanzada fase de ensayo clínico con pacientes de cáncer de pulmón.

26.3.5 Glicosilación en el RE y transporte interorganular

La glicosilación de las proteínas es la unión covalente de cadenas de oligosacáridos a la cadena lateral de algunos aminoácidos. La mayoría de las proteínas de secreción están glicosiladas, a diferencia de las proteínas citosólicas. La glicosilación confiere a las proteínas mayor termorresistencia y resistencia a proteasas y, como consecuencia, aumenta su vida media. Además, las proteínas glicosiladas son más solubles. Por último, el hidrato de carbono de las *N*-glicoproteínas constituye una señal importante para designar el destino de la proteína: a la membrana/secreción o al lisosoma.

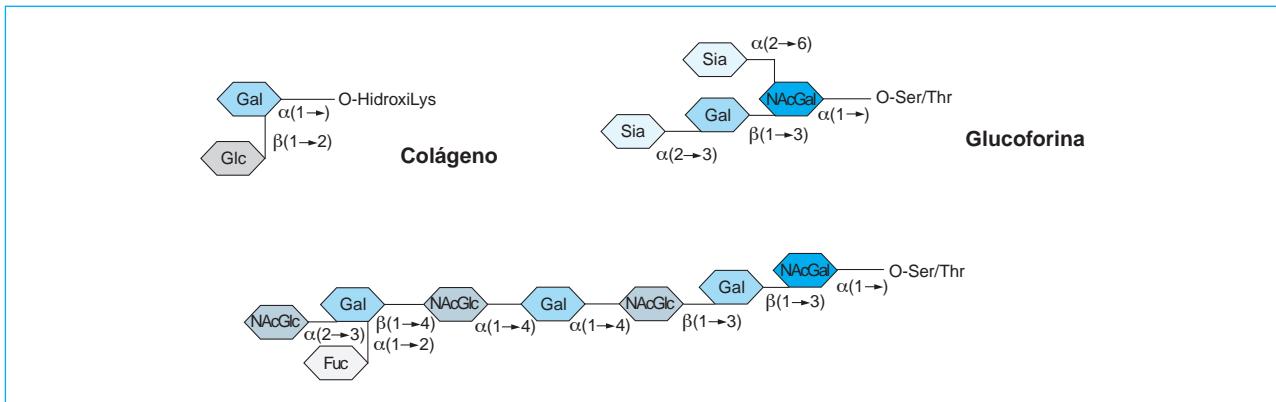


Figura 26-7. Ejemplos de O-oligosacáridos. Estructuras de O-oligosacáridos de algunas proteínas de la ruta secretora. Algunos, como el del colágeno y la glucoforina, son muy sencillos, en comparación con los N-glicanos. Abunda la N-acetil galactosamina (NAcGal), galactosa (Gal), ácido siálico (Sia). También, contienen en ocasiones fucosa (Fuc) y glucosa (Glc).

Los oligosacáridos que forman parte de las glicoproteínas se pueden dividir en dos grandes grupos estructurales, en función de su composición y el tipo de enlace entre el azúcar y el aminoácido:

- **N-oligosacáridos:** son estructuras grandes, complejas y muy ramificadas que contienen manosa y N-acetilglucosamina, con un residuo de ácido siálico con carga negativa al final de cada una de las ramas (Fig. 26-6). La unión del hidrato de carbono y la proteína se establece a través de una molécula de N-acetilglucosamina unida al N amídico de la cadena lateral de una Asn, localizada en un consenso Asn-X-Ser-Y. Existen tres tipos de N-glicanos procedentes todos de un precursor común de 14 residuos: los *ricos en manosa*, como el de la tiroglobulina; *los complejos*, como el de la inmunoglobulina G; y *los mixtos* como el de la ovoalbúmina. Los tres tipos quedan finalmente construidos sobre una estructura central común formada por N-acetilglucosamina (NAcGlc) y tres manosas (Man).
- **O-oligosacáridos:** Son estructuras más sencillas que los N-oligosacáridos, con pocos residuos, aunque variadas (Fig. 26-7). La unión del oligosacárido se produce generalmente a través de un residuo de N-acetilgalactosamina (NAcGal), enlazado a un átomo de oxígeno de las cadenas laterales de Ser y Thr, aunque también existen otras uniones.

Las diferencias estructurales de los dos grupos son reflejo de diferencias en su ruta de síntesis. Las cadenas de O-oligosacáridos se forman por incorporación secuencial de los residuos, de uno en uno. Cada unión está catalizada por una glicosil transferasa específica. En cambio, los N-unidos se forman por adición de un oligosacárido preformado de catorce residuos, sobre el que posteriormente hay recortes y adiciones, en un orden definido y catalizado por distintas enzimas.

cosil transferasa específica. En cambio, los N-unidos se forman por adición de un oligosacárido preformado de catorce residuos, sobre el que posteriormente hay recortes y adiciones, en un orden definido y catalizado por distintas enzimas.

Biosíntesis de las N-glicoproteínas

La síntesis de las N-glicoproteínas es un proceso complejo que transcurre, primero en el lumen del RE y posteriormente, en el del Golgi. En ella interviene un lípido polisoprenoide de cadena larga (75-95 átomos de carbono), el *dolicol*, que atraviesa la membrana del RE cuatro o cinco veces. El proceso comienza con la biosíntesis de un precursor oligosacárido unido a dolicol. El *dolicol pirofosforil oligosacárido* se sintetiza unido a la membrana del RE (Fig. 26-8), primero en la cara citoplasmática, donde las *transferasas* unidas a membrana van transfiriendo secuencialmente los monosacáridos activados por unión a nucleótidos. A continuación, ocurre la inversión del dolicol-pirofósфato oligosacárido hacia el interior del RE, donde termina la síntesis, con participación de las *transferasas* adheridas a la membrana. El oligosacárido Glc₃Man₉NAcGlc₂ unido al dolicol se transfiere, de forma cotraduccional, a un residuo de Asn del consenso Asn-X-Ser-Y, por una *oligosacárido-proteína transferasa* (Fig. 26-8). No todas las Asn presentes en consensos de N-glicosilación son glicosiladas; es necesario que, además, estén accesibles a la *transferasa*.

Posteriormente, y de forma postraduccional, las *glucosidases I y II* del RE eliminan de forma secuencial los tres residuos de Glc y después, la *manosidasa* del RE elimina una Man (Fig. 26-9). Se ha formado una N-glicoproteína rica en manosa, que será modificada en el Golgi para distinguir a

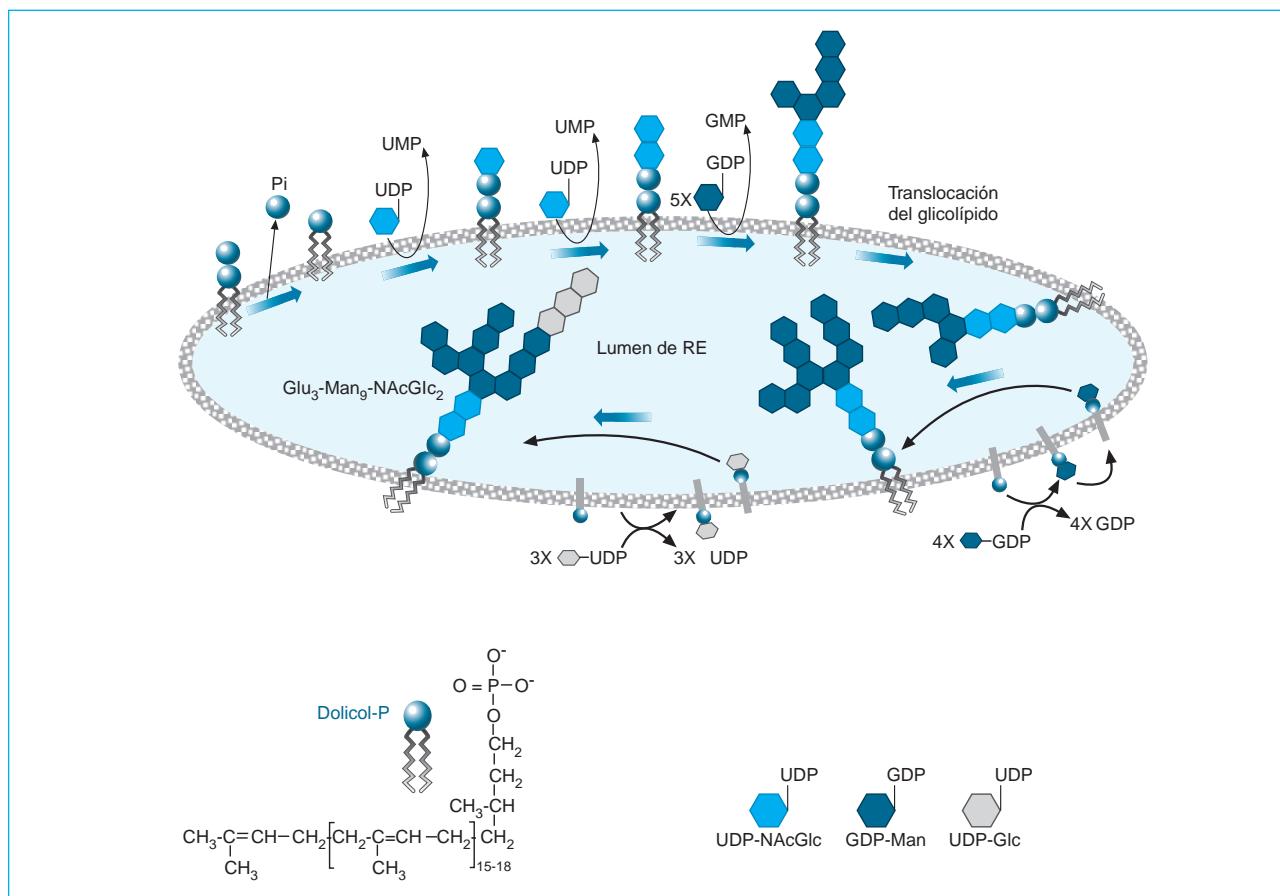


Figura 26-8. Biosíntesis del dolicol-oligosacárido. El precursor del dolicol-oligosacárido es un lípido de la membrana del RE, el dolicol pirofosfato. Sobre él se van transfiriendo de forma ordenada los azúcares de la figura, en primer lugar, por la cara externa del RE y, posteriormente, tras la translocación del glicolípido incompleto, en el lumen. El glicolípido con 14 unidades de monosacárido unido al dolicol está preparado para ser transferido a una proteína. (UDP-NAcGlc: UDP-N-acetyl glucosamina; GDP-Man: GDP-manosa; UDP-Glc: UDP-glucosa.)

las proteínas de membrana plasmática de las lisosomas. Antes que actúe la manosidasa y que la proteína abandone el RE, existe un punto de control adicional que evita que las proteínas mal plegadas o ensambladas salgan con destino a la membrana. Una *glucosil transferasa* incorpora una Glc al oligosacárido Man₉NAcGlc₂, unido a las proteínas mal plegadas, pero no a las que poseen un plegamiento correcto. Ésta es una señal para las proteínas fijadoras de hidratos de carbono o *lectinas* del RE: *calnexina* y *calreticulina*. La calnexina unida a membrana y la calreticulina soluble en el lumen, se unen selectivamente a los oligosacáridos con esta dotación. La proteína unida a las lectinas se desglucosila y la calnexina y la calreticulina, entonces, se disocian. Si la proteína se repliega correctamente, seguirá el camino completo de la ruta secretora. En caso contrario, sufrirá un nuevo ciclo de adición de Glc y unión a lectinas.

Los *N*-oligosacáridos complejos resultan de la modificación posterior en las distintas cisternas del Golgi de los *N*-oligosacáridos ricos en manosa (Man₈NAcGlc₂). Las vesículas de transporte que salen del RE con dirección al *cis*-Golgi (Fig. 26-10) están revestidas por un *coatómero* distinto al de las vesículas de transporte retrógrado, formado por la proteína multimérica *COPII*. Una vez alcanzado el Golgi, las modificaciones que va a sufrir el *N*-oligosacárido unido y el destino de la proteína dependen, sobre todo, de la accesibilidad del oligosacárido a las enzimas de los apilamientos del Golgi, y de determinadas señales de reconocimiento para las mismas.

Una vez en el Golgi, y a medida que las proteínas viajan desde las cisternas del *Cis*-Golgi hasta el compartimento *trans*, las antenas del hidrato de carbono ricas en manosa son modificadas por enzimas específicas de cada apilamiento

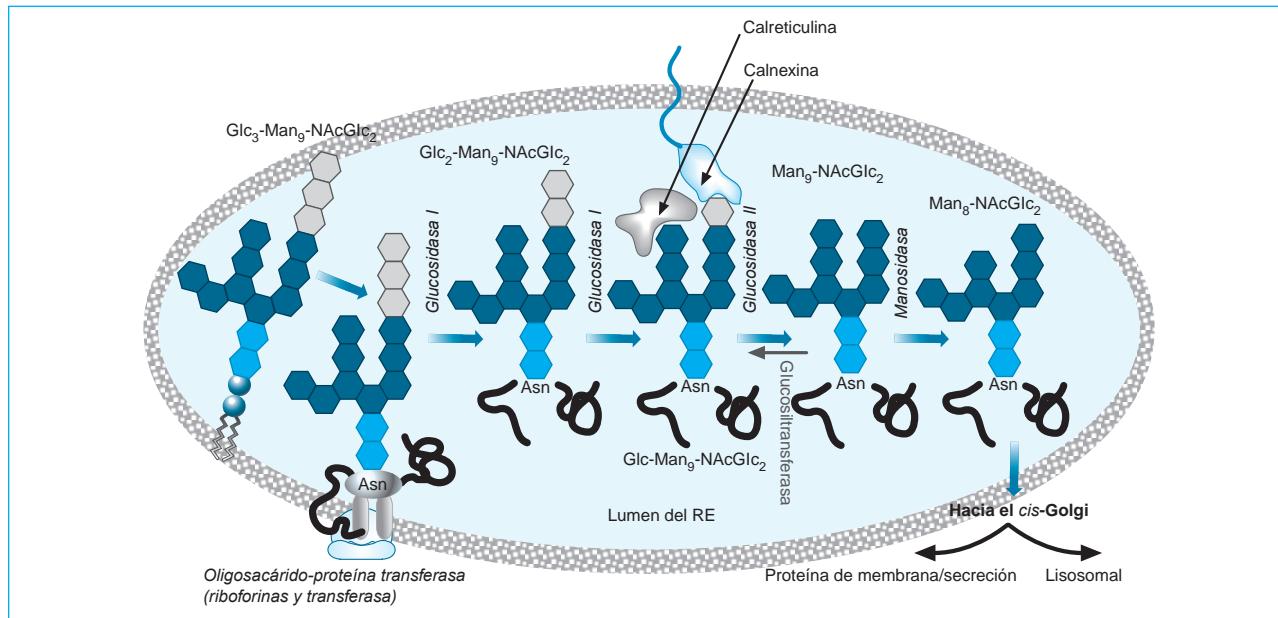


Figura 26-9. Síntesis de N-glicoproteínas. Los residuos de Asn de las proteínas de la ruta secretora que tienen un consenso de glicosilación correcto y que son accesibles a la enzima oligosacárido transferasa, son glicosilados con el oligosacárido precursor común unido a dolicol. Unas glicosidasas específicas del RE modifican el oligosacárido para dejarlo con la fórmula $\text{Man}_8\text{-NAcGlc}_2$, preparadas para exportarlas al Golgi. Las lectinas calreticulina y calnexina se asocian a las proteínas mal plegadas y las retienen hasta que el plegamiento no se completa de forma correcta.

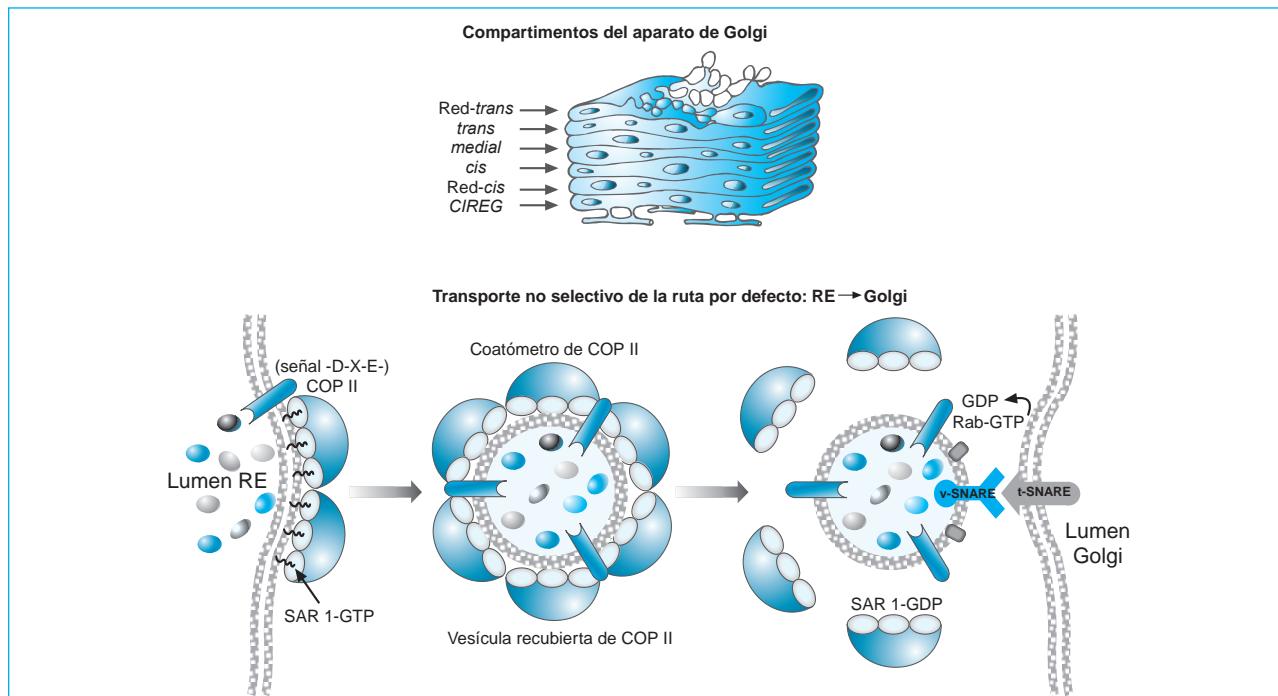


Figura 26-10. Transporte de vesículas desde el RE al Golgi. En el panel superior se muestra un esquema del aparato de Golgi, con las diferentes cisternas que lo componen. En el panel inferior se ilustra la gemación de vesículas recubiertas del coatómero de COP II, que parten desde el RE hacia el Golgi. Las vesículas contienen proteínas de secreción y lisosomales, en ocasiones con la señal diádica en el extremo C-terminal de las proteínas transmembrana. La fusión con la membrana de las cisternas del Golgi ocurre tras el reconocimiento específico de los receptores SNARE y la despolimerización del coatómero.

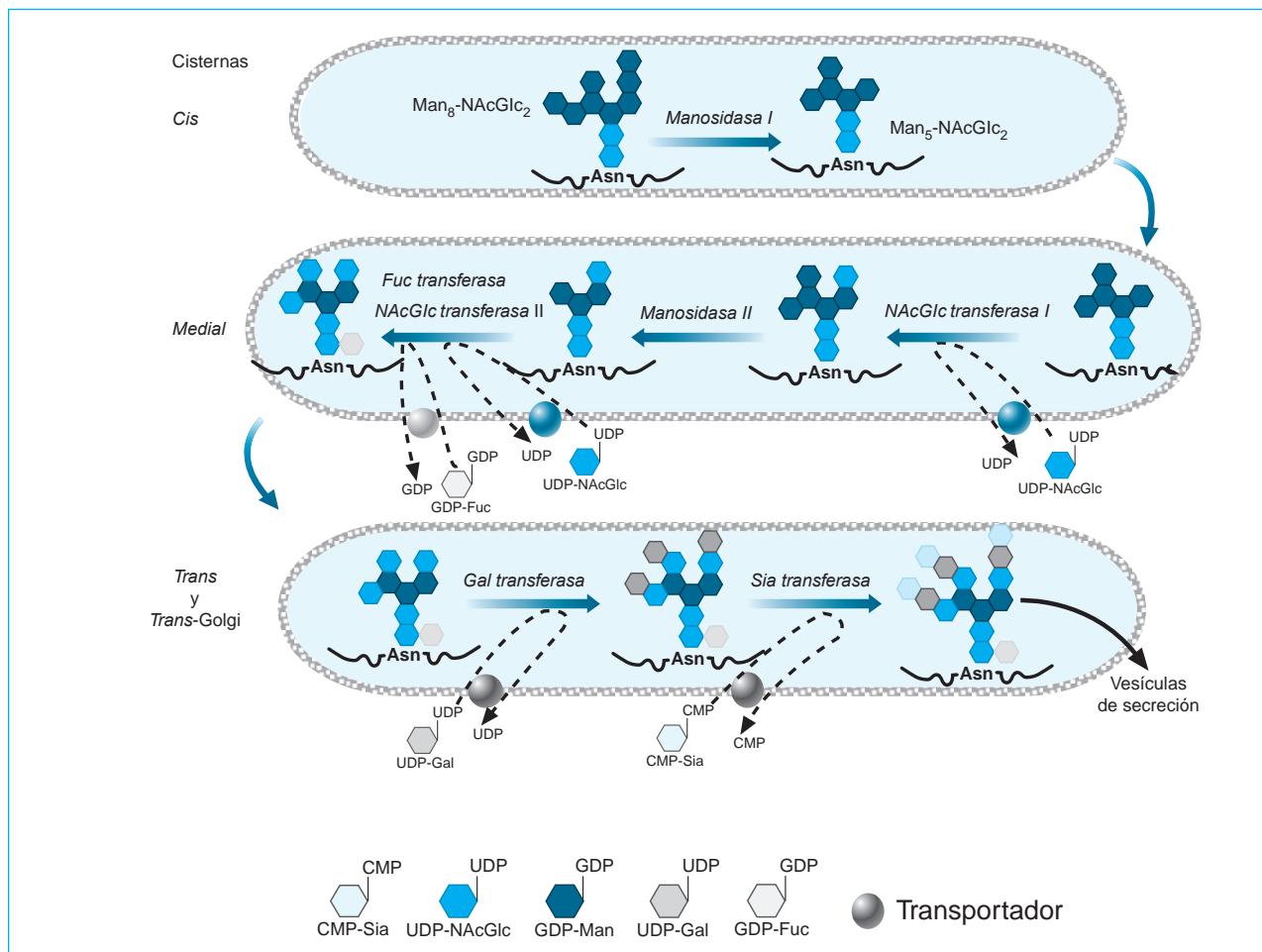


Figura 26-11. Modificación del N-oligosacárido de las proteínas de secreción en las cisternas del Golgi. Se muestran las enzimas (glucosidasas y glicosil transferasas) que participan en la modificación del N-oligosacárido, a su paso por las distintas cisternas del Golgi. En el Cis-Golgi, los N-oligosacáridos Man₈NacGlc₂ de las proteínas de secreción y de membrana son sustratos de la manosidasa I, que elimina tres residuos de Man. A continuación, en la cisterna medial, la N-acetilglucosamina transferasa I adiciona una molécula de NAcGlc, utilizando como sustrato un azúcar activado por unión a UDP, y forma el oligosacárido NAcGlcMan₅NAcGlc₂, sobre el que actúa la manosidasa II del Golgi, que elimina dos residuos más de Man. De este modo, se obtiene el núcleo de tres residuos de Man que tienen todas las glicoproteínas con un N-oligosacárido complejo. En esta cisterna, también se transfieren dos NAcGlc y una Fuc por las transferasas específicas (a partir de los azúcares activados). En el paso final, en la cisterna trans del Golgi, sobre el oligosacárido NAcGlc₃Man₃NAcGlc₂Fuc, la galactosil transferasa adiciona tres residuos de Gal y la sialil transferasa añade tres moléculas de ácido siálico.

(Fig. 26-11). Tras estas modificaciones secuenciales, las N-glicoproteínas están preparadas para la exportación a la membrana plasmática o al medio extracelular.

N-glicoproteínas lisosomales

Las hidrolasas lisosomales tienen un marcador, la manosa-6-fosfato (Man6P) que se añade a la proteína mientras ésta reside en la red Cis del Golgi, antes de que comience la modificación de las antenas del hidrato de carbono (Fig. 26-12). La formación del marcador requiere dos reacciones sucesivas.

Primero, una fosfotransferasa específica que reconoce una secuencia señal dependiente de conformación en las proteínas lisosomales transfiere NAcGlc-Pi a determinadas Man, a partir del sustrato activado por unión a UDP. A continuación, en la cisterna medial, la glucosaminidasa-1-fosfato elimina los residuos de NAcGlc destapando el marcador de Man6P.

Los restos de Man6P son reconocidos por un receptor transmembrana específico de la red del Trans-Golgi, y el complejo formado por las glicoproteínas lisosomales marcadas con Man6P y el receptor firmemente unido es envuelto en unas

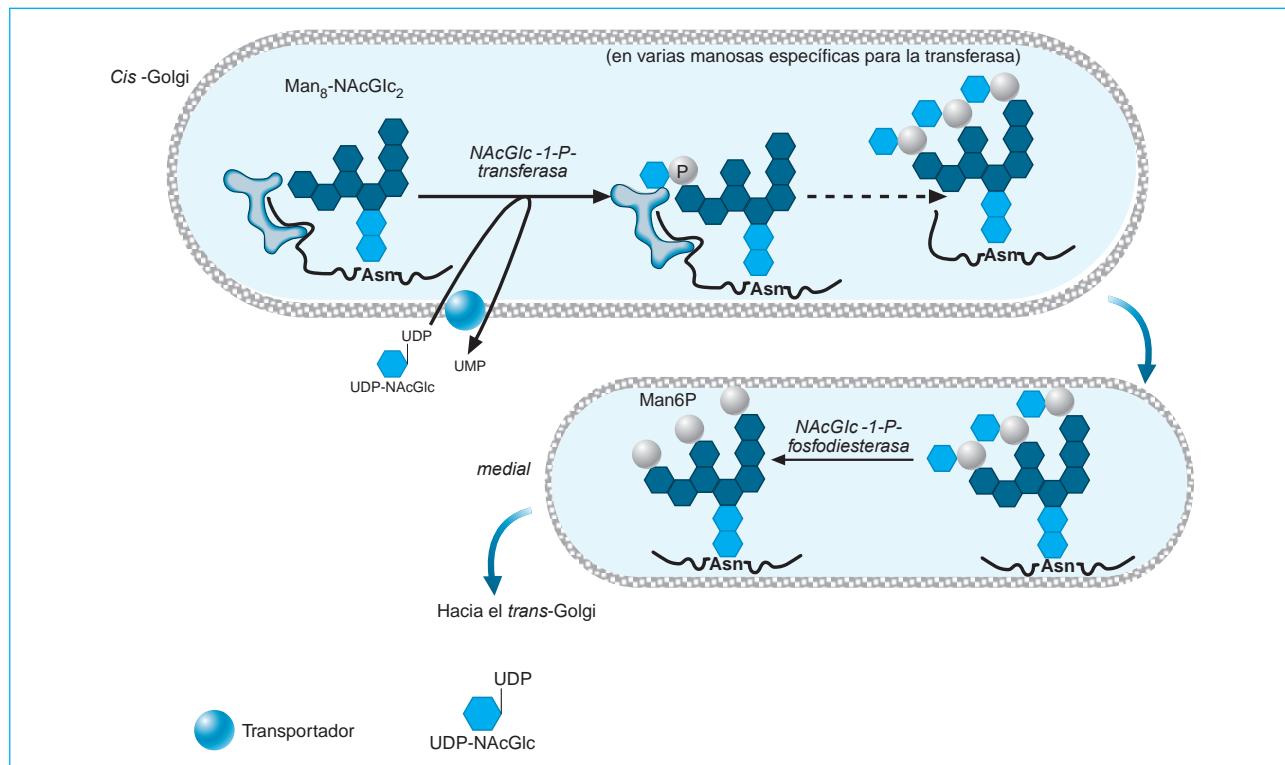


Figura 26-12. Modificación del N-oligosacárido de las proteínas lisosomales en las cisternas del Golgi. Los N-glicanos de las proteínas lisosomales que proceden del RE se marcan en el *cis*-Golgi mediante el reconocimiento de una conformación específica por parte de la N-acetyl glucosamina-1-fosfato transferasa. Esta enzima reconoce una región señal en las proteínas lisosomales e incorpora el precursor del marcador Man6P. Las proteínas que contienen esta marca serán enviadas a los endosomas.

vesículas especiales recubiertas por dos complejos proteicos: la *clatrina* y las *proteínas adaptadoras*, para dirigirlas hacia los endosomas tardíos (Fig. 26-13). La clatrina es una proteína con tres cadenas pesadas y tres ligeras que forma una estructura llamada *triskelión*. Se ensambla en la cara citoplasmática de la vesícula formando una red que distorsiona la membrana del *Trans-Golgi* y junto con las adaptadoras facilita la gemación. Las proteínas adaptadoras son complejos multiproteicos necesarios, tanto para unir el revestimiento de la clatrina a la membrana de la vesícula, como para seleccionar la carga del interior de la vesícula, pues reconocen una secuencia señal de aminoácidos fosforilados en el extremo carboxilo terminal citosólico del receptor de Man6P. La gemación requiere de una proteína ARF con actividad GTPasa y el brote lo facilita otra proteína, la *dinamina*, que también hidroliza GTP y disocia la vesícula de la membrana del Golgi. El revestimiento de clatrina se pierde después de la gemación y antes de la fusión con el endosoma, en un proceso dependiente de energía. La fusión con los endosomas tardíos está facilitada por los receptores v-SNARE y t-SNARE y por la actividad GTPasa de proteínas de la familia Rab. El pH de los endosomas, más

ácido que el de las vesículas, contribuye a liberar a las proteínas lisosomales del receptor, y a ese pH las hidrolasas comienzan a degradar el material contenido en el endosoma. Una fosfatasa hidroliza el Pi de la Man6P de las enzimas para asegurar que no vuelvan a ser reconocidas por el receptor. Dos tipos de vesículas parten desde los endosomas tardíos: unas contienen las enzimas hidrolíticas que se fusionan con los lisosomas mientras que los receptores son reciclados a la red *trans* del Golgi en unas vesículas de transporte retrógrado específicas.

El proceso de marcaje y clasificación de las enzimas lisosómicas es un acontecimiento muy importante de la biología de una célula, ya que determina la capacidad hidrolítica del orgánulo. Unos trastornos genéticos denominados *enfermedades por almacenamiento lisosómico*, son debidos a la deficiencia de una o más enzimas lisosomales (Recuadro 26-2).

26.3.6 Biosíntesis de las O-glicoproteínas

La *O*-glicosilación transcurre en el Golgi y es una modificación más sencilla que la *N*-glicosilación. Las *glicosil transferasas* responsables de la *O*-glicosilación están asociadas a

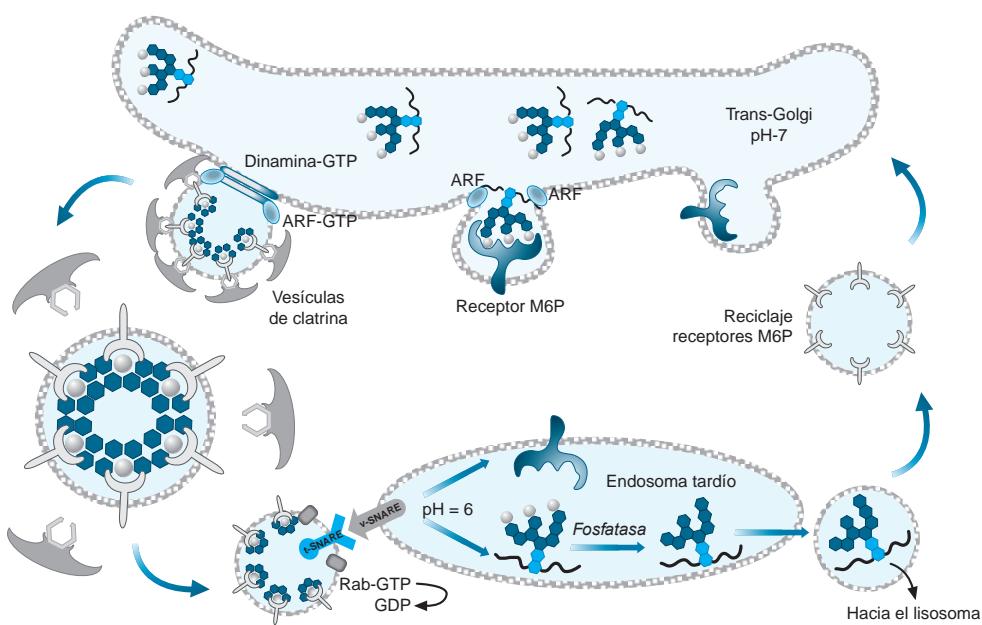


Figura 26-13. Transporte de las proteínas lisosomales desde el Golgi a los endosomas y los lisosomas. Las proteínas con el marcador Man6P se cargan en vesículas que emergen del Golgi. Las proteínas son reconocidas por el receptor de la Man6P de la membrana del Golgi, y éste por unas proteínas adaptadoras citosólicas que ayudan a que se ensamble la cubierta de clatrina. En la gemación de la vesícula también participa la dinamina, en un proceso dependiente de energía. La despolarización ocurre antes de la fusión con la membrana del endosoma. En el endosoma, las proteínas se separan del receptor y pierden la marca. De los endosomas tardíos emergen las vesículas dirigidas a los lisosomas.

la membrana del Golgi con el sitio activo orientado al interior del orgánulo. Son específicas, no sólo del sustrato, sino también del producto acceptor e, incluso, del tipo de enlace que forman entre ellos. Todos los monosacáridos que se emplean como sustratos están activados por unión a nucleótidos y son sintetizados en el citoplasma. Desde el citoplasma, entran a través de un transportador específico al interior del Golgi, mediante antiporte con los nucleósidos monofosfato libres.

Un ejemplo de *O*-glicoproteínas de mucha importancia biomédica son los antígenos humanos de grupos sanguíneos del sistema AB0, presentes en las membranas de los eritrocitos, de otras células epiteliales y endoteliales y en secreciones como saliva, lágrimas, leche y jugo gástrico. Cada determinante antigenético está constituido por un oligosacárido unido a una Ser o Thr de las proteínas de membrana de estas células (Fig. 26-14). El antígeno 0 tiene unido a la proteína el pentasacárido -Fuc-Gal-NAcGal-Gal-NAcGal. El antígeno

Recuadro 26-2. ENFERMEDADES POR ALMACENAMIENTO LISOSÓMICO

La enfermedad celular de tipo I es un ejemplo extremo de enfermedad por almacenamiento lisosómico. La base molecular radica en una mutación del

gen que codifica la *N-acetylglucosamina-1-P transferasa* de la red *cis* del Golgi, enzima necesaria para que se forme la señal de Man6P de las proteínas lisosomales. Al carecer de esta señal, las enzimas lisosómicas de los individuos afectados se secretan en vez de quedar retenidas en los lisosomas, y aparecen en la sangre. El estado defici-

tario de enzimas lisosomales provoca una acumulación de biomoléculas no digeridas en los lisosomas que llega a bloquear el metabolismo de la célula afectada. Los síntomas se manifiestan durante el primer año de vida con retraso mental, alteraciones óseas y facciones toscas. La esperanza de vida no supera los cinco años.

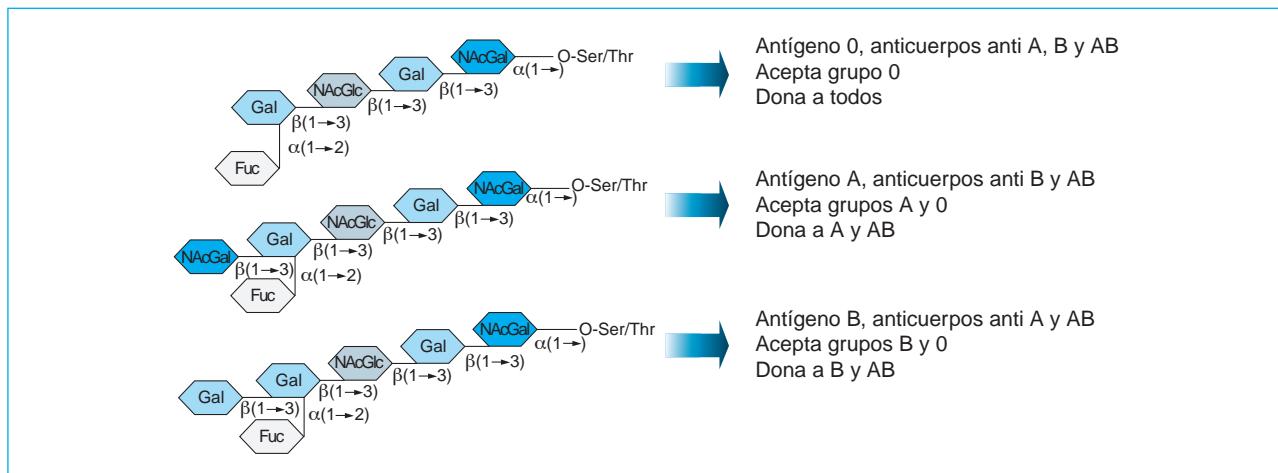


Figura 26-14. Antígenos sanguíneos del sistema ABO. O-oligosacáridos del sistema ABO unidos a algunas proteínas sanguíneas y de otras secreciones. Los antígenos 0, A y B se distinguen entre sí, únicamente, en el último monosacárido unido.

A lleva unida sobre la última Gal una NAcGal. El antígeno B lleva unida sobre la última Gal otra Gal. La existencia de uno u otro antígeno radica en un *locus* del cromosoma 9 que tiene tres alelos posibles descritos. El alelo A codifica una *N-acetil galactosil transferasa* y el alelo B codifica una *galactosil transferasa*. Estos dos alelos se diferencian únicamente en cuatro nucleótidos, que generan dos proteínas con cuatro aminoácidos distintos y con distintas especificidades de sustrato. El alelo 0 tiene una supresión de un par de bases que origina un codón de paro de la traducción prematuro, y codifica una proteína inactiva. La diferencia antigenica causada por la expresión de una u otra *transferasa* determina incompatibilidades en los trasplantes de órganos y en las transfusiones sanguíneas entre individuos que no tienen el mismo grupo sanguíneo, ya que los individuos del grupo A tienen anticuerpos naturales (IgM) frente a la sangre tipo B y viceversa, y por ello no pueden recibir sangre nada más que de su mismo grupo o del grupo 0. Existen individuos con grupo AB (expresan las dos *transferasas*) que, por tanto, no presentan rechazo ni frente al grupo A ni frente al B. Hay también individuos que no tienen ni el antígeno A ni el B (expresan la *transferasa truncada*) y, por ello, poseen anticuerpos anti A y B. Sólo se les puede transfundir con sangre de su mismo grupo, el 0, pero pueden donar sangre a individuos de cualquier grupo.

26.3.7 Modificación en vesículas

Las proteínas de secreción se dirigen a la membrana plasmática en el interior de unas vesículas que surgen por gemación desde el *trans-Golgi*. Existen dos tipos de vesículas que se distinguen en función del mecanismo de carga y gemación.

La *secreción constitutiva* de proteínas es el mecanismo de transporte continuo que ocurre en todas las células eucarióticas. La *secreción regulada* sólo se produce cuando llega una señal a determinadas células, por ejemplo las células beta de los islotes pancreáticos que secretan insulina en respuesta a una concentración sanguínea de glucosa elevada. En los dos tipos de vesículas pueden darse procesos de modificación de las proteínas de secreción. Entre estas modificaciones tardías, las más comunes son la *proteólisis* de la proproteína y la *conjugación con metales*.

Proteólisis de proproteínas

Algunas proteínas de secreción, como la hormona del crecimiento, sólo necesitan la escisión del péptido señal en el lumen del RE para convertirse en una proteína activa. Sin embargo, otras requieren una *proteólisis adicional* para dar lugar a proteínas maduras a partir de los precursores inactivos denominadas *proproteínas*. Se trata, por un lado, de un mecanismo de seguridad para evitar que la proteína sea activa previamente a su liberación, como le ocurre a las proenzimas proteolíticas implicadas en la digestión, *tripsina* y *quimotripsina*. Por otro lado, este mecanismo permite asegurar el tráfico y la secreción de péptidos pequeños como las encefalinas, demasiado cortos para contener todas las señales de dirección. En algunos casos, la *proteólisis* de la proproteína ocurre en el interior de las vesículas de secreción y en otros, como en el de las *proteasas digestivas*, tras su liberación al medio extracelular. Las secuencias diana para la *proteólisis* están bien establecidas. El corte tiene lugar detrás de una pareja de aminoácidos básicos. Las proteasas responsables pertenecen a una familia de *endoproteasas*, algunas de las cuales están expresadas en todas las células, como la *furina*,

mientras que otras tienen una expresión diferencial según el tipo celular, como las *proconvertasas PC1, PC2 y PC3*. La furina corta proteínas de secreción constitutiva, como la pro-albúmina, eliminando un péptido amino terminal. Las *PC1, PC2 y PC3* cortan proproteínas de secreción regulada, que sufren más de un corte proteolítico para dar lugar a una o más formas maduras biológicamente activas. Es el caso de muchas prohormonas como la *proinsulina* y la *proopiomelanocortina* (POMC).

Conjugación con metales

La última de las modificaciones postraduccionales de algunas proteínas es la captación de un catión metálico. Los iones metálicos Zn, Cu y Fe, entre otros, intervienen como componentes estructurales de transportadores o como cofactores de enzimas que catalizan reacciones de transferencia de electrones o de isomerización (véase el Cap. 8). Algunos de estos iones resultan tóxicos para la célula cuando se encuentran libres, pues producen radicales hidroxilo muy reactivos frente a lípidos, proteínas, ARN y ADN. Esta toxicidad se manifiesta incluso a muy baja concentración (attomolar) es decir, cada célula apenas tolera más de uno de estos átomos libres. Por eso, la célula dispone de mecanismos basados en la presencia de proteínas de almacenamiento y chaperonas metálicas que controlan el nivel intracelular de iones y sólo los distribuyen a las proteínas que los necesitan.

Las *metalochaperonas* son proteínas que transfieren los iones a los centros metálicos de determinadas metaloproteínas mediante interacciones proteína-proteína muy específicas.

Casas, y evitan que los quelantes intracelulares disminuyan la disponibilidad de estos iones. Las mejor estudiadas son las *cobre-chaperonas*, es decir, las proteínas que transfieren el cobre que se introduce en la célula a través de un transportador proteico (hCTR1p) a los centros de unión a cobre de otras proteínas. Estas chaperonas están muy conservadas entre especies, desde procariotas hasta eucariotas superiores. Son pequeños polipéptidos de unos 70 aminoácidos, con una secuencia consenso -M-X-C-X-X-C- cerca del extremo amino terminal. Pueden ceder el cobre a otras proteínas receptoras que se encuentren en el citoplasma, como es el caso de la *superóxido dismutasa* (SOD), en algún orgánulo, como la citocromo C oxidasa, o en vesículas especiales del *trans-Golgi*, como las *proteínas relacionadas con los síndromes de Wilson y Menkes* (WD y MNK). Estas proteínas de la ruta secretora son transportadoras de cobre con actividad ATPasa y tienen seis subdominios homólogos con un motivo de unión a cobre cada uno. Las chaperonas de cobre citosólicas ceden directamente el cobre a las proteínas MNK y WD en vesículas específicas del *trans-Golgi*. La interacción entre la sobre-chaperona y la proteína receptora se establece según el modelo de la llave-cerradura, es decir, existe un acoplamiento entre las dos proteínas por la cara en la que se cede el metal.

Las mutaciones en los genes de las proteínas transportadoras de cobre (WD, MNK) en regiones que afecten al motivo consenso M-X-C-X-X-C- disminuyen la interacción con las sobre-chaperonas citosólicas, e impiden la correcta distribución de iones metálicos en el organismo (Recuadro 26-3).

Recuadro 26-3. ENFERMEDADES RELACIONADAS CON EL TRANSPORTE DEL COBRE

La proteína WD se expresa mayoritariamente en los hepatocitos y el cerebro y transfiere el cobre en el interior de las vesículas a la *ceruloplasmina*. La ceruloplasmina es una glicoproteína plasmática con actividad *ferrooxidasa* que colabora con *transferrina* en el transporte del hierro. La proteína de Menkes se expresa mayoritariamente en las células de la mucosa intestinal y regula la absorción del cobre de la dieta. Las mutaciones en

los genes de las proteínas transportadoras de cobre (WD, MNK) en regiones que afectan al motivo consenso M-X-C-X-X-C- disminuyen la interacción de éstas con las sobre-chaperonas citosólicas. Los individuos afectados por la enfermedad de Wilson, de carácter autosómico recesivo, son incapaces de exportar cobre desde el hígado a los tejidos. Esto ocasiona un depósito de cobre que origina daño celular, particularmente grave en el hígado y el cerebro debido al acúmulo de este metal. Un síntoma frecuente es la deposición de cobre en la córnea, formando lo que se ha denominado «anillos de Kayser-Fleischer».

Además, esta enfermedad impide la transferencia del cobre en el interior de las vesículas del *Trans-Golgi* a la ceruloplasmina. El déficit de ceruloplasmina activa ocasiona también trastornos en el transporte y la distribución del hierro, provocando anemia. Los individuos afectados por la enfermedad de Menkes (de carácter recesivo y ligada al cromosoma X) tienen deficiencia de cobre en los tejidos debido a la falta de transporte intestinal de cobre. Los síntomas relacionados son debilidad arterial y alteraciones de la piel y el pelo, y graves afecciones cerebrales, detectables a las pocas semanas de vida.

RESUMEN

- Las proteínas citosólicas son sintetizadas por los ribosomas libres del citoplasma. Las mitocondrias y los cloroplastos, aunque poseen una maquinaria de traducción completa, importan desde el citoplasma muchas de sus proteínas, que son sintetizadas por los ribosomas libres. Las proteínas de los peroxisomas y del núcleo también se sintetizan en los ribosomas citosólicos.
- Las proteínas de la ruta secretora (proteínas del RE, Golgi, lisosomas, membrana plasmática o de secreción) se sintetizan en los polirribosomas unidos al RE, y se importan al lumen del RE de forma cotraduccional o postranduccional.
- La importación de proteínas desde el citoplasma al núcleo, mitocondrias, peroxisomas y RE está facilitada por unos poros o estructuras específicas en la membrana del orgánulo. El transporte de proteínas desde el RE al Golgi y a la membrana plasmática ocurre mediante vesículas de tráfico intracelular.
- El destino de la proteína viene determinado en la estructura primaria de la misma, mediante una secuencia señal, o bien en la conformación tridimensional por una región señal, que son reconocidas por la maquinaria de transporte de cada orgánulo.
- Las proteínas de la ruta secretora se translocan a través de un poro multiproteico de la membrana del RE, el translocón. En la translocación participa la PRS, el receptor de PRS y, a menudo, algunas chaperonas como BiP. La *peptidasa señal* corta el péptido señal en el lumen del RE.
- Algunas secuencias internas determinan la inserción de la proteína en la membrana del RE, a través de uno o varios fragmentos transmembrana. La ausencia de estas secuencias permite la liberación de la proteína soluble al lumen del RE.
- El plegamiento correcto de las proteínas en el lumen del RE se va adquiriendo de forma cotraduccional, en un proceso asistido por chaperonas y enzimas, como la *disulfuro isomerasa* y *peptidilprolil isomerasas*.
- A la vez que adquieren el plegamiento correcto, las proteínas se pueden modificar simultáneamente con lípidos, mediante la adquisición de anclas de GPI o bien por acilación con ácido palmítico o mirístico.
- La glicosilación es otra modificación muy frecuente de las proteínas de la ruta secretora. Puede ser de dos tipos: *N*-glicosilación y *O*-glicosilación. La *N*-glicosilación comienza en el RE y continúa en el Golgi. La *O*-glicosilación transcurre en el Golgi.
- La *N*-glicosilación es característica de proteínas de secreción y lisosómicas. La glicosilación, que en sus primeras etapas es idéntica para ambos tipos de proteínas, se diferencia a partir de que la proteína llega a los apilamientos del Golgi, con un oligosacárido rico en Man. El transporte desde el RE al Golgi transcurre en vesículas recubiertas de coatómero COPII. Las proteínas de membrana y secreción, tras varias etapas de adición y eliminación de glúcidios, terminan con una dotación característica que contiene tres residuos de Man en el interior del oligosacárido.
- En el *cis*-Golgi, unas *transferasas* específicas reconocen la región señal de las proteínas lisosómicas y les añaden el marcador Man6P. Las vesículas recubiertas de clatrina que contienen las proteínas con el marcador Man6P, se funden con los endosomas tardíos. En ellos las proteínas se separan del receptor, que se recicla. Otras vesículas, que contienen las *hidrolasas* lisosomales, geman en dirección a los lisosomas.
- Los *O*-oligosacáridos son más pequeños y menos complejos que los *N*-oligosacáridos. Su biosíntesis es más sencilla, y transcurre mediante adiciones secuenciales de un azúcar a la cadena en crecimiento, sobre residuos de serina o treonina de la proteína.
- En las vesículas de secreción a la membrana que parten del *trans*-Golgi ocurren, en ocasiones, dos modificaciones adicionales: la proteólisis de la proproteína y la adquisición de algún ion metálico. Los sitios de proteólisis vienen determinados en la secuencia de la proteína. Los iones metálicos son transferidos a la proteína con la participación de metalochaperonas.

EVALUACIÓN

1. (A). Localización de la síntesis de las proteínas:
 - a. Todas las proteínas de la célula se sintetizan en el citoplasma.
 - b. Todas las proteínas de las mitocondrias y los cloroplastos se sintetizan por los ribosomas intraorganulares.
 - c. Las proteínas de los peroxisomas, el núcleo y los lisosomas se sintetizan en los polirribosomas del RE.
 - d. Las proteínas de la ruta biosintética-secretora no se sintetizan en los ribosomas citosólicos libres.
 - e. Las proteínas de secreción se sintetizan unidas a la membrana plasmática.

2. (B). Señales de dirección:
 1. Las proteínas lisosomales contienen una región señal y una secuencia señal que las dirige a su orgánulo.
 2. Las proteínas nucleares sólo tienen región señal, pero no secuencia señal.
 3. Las proteínas transmembrana contienen, además del péptido señal, una señal de detención de la inserción y fijación a la membrana.
 4. Las proteínas citoplasmáticas contienen una señal de residencia en el citoplasma.

3. (C). El péptido señal M-R-S-L-L-I-L-V-L-C-P-L-P-L-A-A-L-G-K- contiene un sitio de corte para la peptidasa señal entre los residuos de Gly y Lys PORQUE contiene en -1 y -3 dos aminoácidos pequeños y sin carga.

4. (A). Translocación de proteínas de la ruta biosintética secretora.
 - a. La translocación cotraduccional es independiente de la PRS y de su receptor.
 - b. En la translocación postraduccional participan chaperonas citosólicas y del lumen del RE.
 - c. Todas las proteínas con regiones transmembrana se translocan postraduccionalmente.
 - d. Todas las proteínas solubles de la ruta secretora se translocan postraduccionalmente.
 - e. El translocón facilita el paso de proteínas plegadas a través de la membrana del RE.

5. (B). Plegamiento de proteínas de la ruta secretora.
 1. Los puentes disulfuro de las proteínas con muchas cisteínas se establecen postraduccionalmente de forma espontánea.
 2. La mayoría de las proteínas de membrana contiene los puentes disulfuro en la cara extracelular.
 3. Las chaperonas se unen a regiones hidrofílicas de las proteínas para mantenerlas desplegadas.
 4. Las peptidilprolil isomerasas facilitan la isomerización de los enlaces peptídicos para ayudar al plegamiento.

6. (C). Las proteínas transmembrana de siete hebras están palmitoiladas en un residuo de cisteína del extremo carboxilo terminal PORQUE de este modo quedan insertadas en la membrana plasmática.

a b c d e

7. (A). Glicosilación de las proteínas.
 - a. Los *N*-oligosacáridos están unidos a las proteínas mediante enlace amida con una Asn.
 - b. Los *O*-oligosacáridos están unidos a las proteínas mediante un enlace éster con una Ser o Thr.
 - c. La oligosacárido proteína transferasa participa en la síntesis de las *N*-glicoproteínas, pero no en la de las *O*-glicoproteínas.
 - d. Las lectinas calnexina y calreticulina participan en el control de calidad del RE.
 - e. Todo lo anterior es cierto.

8. (B). Proteínas lisosomales.
 1. Las proteínas lisosomales, al igual que las proteínas de secreción, contienen un *N*-oligosacárido con un núcleo de tres Man.
 2. El marcador Man6P es transferido a las proteínas lisosomales en las cisternas del *cis*-Golgi.
 3. Las vesículas de reciclaje con el receptor de Man6P parten de los endosomas tardíos con dirección al Golgi.
 4. El receptor del marcador de Man6P es una proteína transmembrana de los lisosomas.

a b c d e

9. (C). Tráfico vesicular entre el RE y el Golgi.

Las vesículas de transporte retrógrado recubiertas de coátomer de COPI devuelven a las proteínas que residen en el RE PORQUE tanto las proteínas solubles, como las de membrana del RE contienen una señal de residencia en este orgánulo.

a b c d e

10. (A). Modificaciones en las vesículas de secreción.
 - a. La proteólisis de proproteínas ocurre en el interior de las vesículas de secreción constitutiva, pero no en las de secreción regulada.
 - b. Los sitios de proteólisis en las proproteínas están flanqueados por un par de aminoácidos básicos en el lado amino del sitio de corte.
 - c. Las endoproteasas convierten las proproteínas en proteínas maduras cuando cortan en uno o más de un sitio de proteólisis.
 - d. Las respuestas a y b son correctas.
 - e. Las respuestas b y c son correctas.

BIBLIOGRAFÍA

- Biondi RM: Phosphoinositide-dependent protein kinase 1, a sensor of protein conformation. *TiBS* 2004; 29: 136-142.
- Cabral CM, Liu Y, Sifers RN: Dissecting glycoprotein quality control in the secretory pathway. *TiBS* 2001; 26: 619-624.
- Dalbey RE, von Heijne G: *Protein targeting, transport and translocation*. London: Academic Press 2002.
- Frand A, Couzzo J, Kaiser C: Pathways for protein disulphide bond formation. *TiBS* 2000; 10: 203-210.
- Jentoff N: Why are proteins O-glycosilated? *TiBS* 1990; 15: 291-294.
- Maeder T: Glucómica. *Inv y C* 2000; marzo: 52-59.
- Martin J, Gruber M, Lupas AN: Coiled coils meet the chaperone world. *TiBS* 2004; 29: 455-458.
- McIlhinney RAJ: The facts of life: the importance and function of protein acylation. *TiBS* 1990; 15: 387-391.
- Paulson JC: Glycoproteins: what are the sugar chains for? *TiBS* 1989; 14: 272-276.
- Schrag JD, Procopio DO, Cygler M *et al*: Lectin control of protein folding and sorting in the secretory pathway. *TiBS* 2003; 28: 49-57.
- Scott JD, Pawson T *et al*: Membrane trafficking of G protein-coupled receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2004; 44: 559-609.
- Wear MA, Cooper JA: Capping protein: new insights into mechanism and regulation. *TiBS* 2004; 29: 418-428.
- Yarema K, Bertozzi C: Characterizing glycosylation pathways. *Gen Biol* 2001; 2: 1-10.

ASPECTOS MOLECULARES DEL CRECIMIENTO Y LA DIFERENCIACIÓN CELULAR

27.1 INTRODUCCIÓN

El desarrollo de un organismo superior supone la multiplicación mitótica del óvulo fecundado para dar lugar a la multitud de células presentes en el organismo adulto, así como a la aparición de agrupaciones celulares especializadas, que constituyen los órganos o tejidos. Por tanto, en el desarrollo concurren dos procesos celulares estrechamente relacionados: *proliferación* y *diferenciación*. Normalmente, existe una relación inversa entre el grado de diferenciación de una población celular y su capacidad de proliferación. Las células muy diferenciadas, como las neuronas, se dividen poco o nada, mientras que el huevo recién fecundado crece rápidamente por divisiones mitóticas. Además, las células diferenciadas pierden *potencialidad*. El óvulo y las células resultantes de sus primeras divisiones son *totipotentes*, en el sentido de que pueden ser precursoras de cualquier tipo de célula. Sin embargo, una célula diferenciada sólo puede conducir, al dividirse, a células del mismo tipo. Esta pérdida de potencialidad no refleja una disminución del material genético, ya que en cada división la información genética se replica en su totalidad y se transmite inalterada a las células hijas, sino el uso selectivo de un conjunto determinado de genes, mientras que los demás permanecen silenciosos.

Los procesos de proliferación y diferenciación están regulados por genes cuya expresión se controla muy a menudo por moléculas extracelulares de señalización. La naturaleza y el modo de acción de estos genes, así como de las moléculas de señalización que los regulan, están siendo intensamente investigados debido a su relación, entre otros procesos, con la oncogénesis. Aunque, precisamente como consecuencia de la diferenciación, cada tipo celular posea características propias, es posible describir una serie de líneas generales. En este capítulo, se describirán los aspectos esenciales de la regulación de la proliferación, senescencia y muerte celular, así como algunos de los mecanismos que intervienen en la aparición y el mantenimiento de la diferenciación.

27.2 CICLO CELULAR Y FACTORES DE CRECIMIENTO

27.2.1 El ciclo celular. Ciclinas y quinasas dependientes de ciclinas

El ciclo celular de una célula somática conduce desde una célula progenitora con dotación cromosómica diploide hasta dos células hijas con dotaciones cromosómicas idénticas entre sí y a la de la célula madre. La replicación del ADN se efectúa en la fase S del ciclo, y la segregación de los cromosomas duplicados en dos núcleos, con la separación mitótica asociada, en la fase M. Estas dos fases esenciales del ciclo celular están separadas por períodos intermedios denominados G₁ y G₂ (Fig. 27-1). La fase G₁ es una fase de biosíntesis

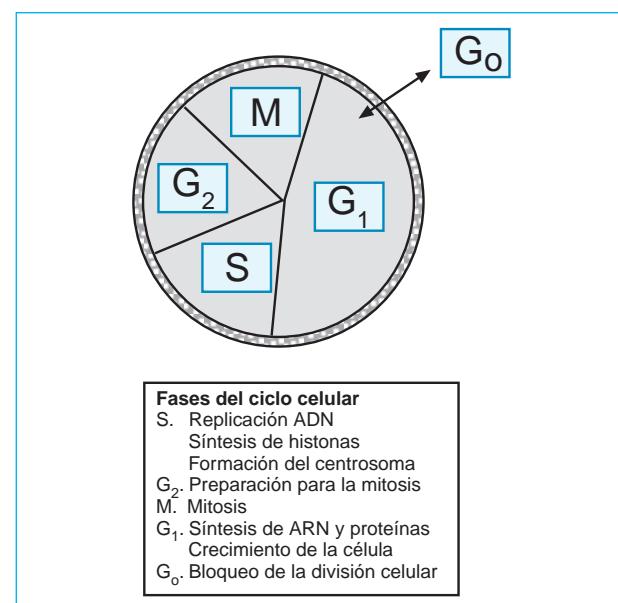


Figura 27-1. Fases del ciclo celular de las células eucarióticas. El ciclo consta de cuatro fases bien diferenciadas. La integración de las señales extracelulares reguladoras de la proliferación se produce durante la fase G₁. Una vez que la célula abandona esta fase e inicia la entrada en la fase S, debe recorrer el ciclo en su totalidad y completar la mitosis, para volver a la fase G₁.

activa que prepara la célula para la fase replicativa. Su longitud es muy variable y determina la duración total del ciclo de cada tipo celular. La fase G₂ es la de preparación para la mitosis. Normalmente, la fase G₂ y la mitosis se desencadenan y completan siempre tras la fase S, lo que explica que la dotación cromosómica de las células somáticas sea diploide.

Las células de los organismos superiores se dividen o permanecen quiescentes en respuesta a factores extracelulares. El estado de cada célula resulta de un balance entre estímulos mitógenos, que inducen la división celular, y estímulos citostáticos, que la inhiben. Estos estímulos se procesan e integran durante la fase G₁. Cuando predominan las señales antimitógenas, la célula permanece quiescente, entrando en un estado denominado G₀. Cuando reciba nuevas señales mitógenas, normalmente aportadas por moléculas de tipo proteico denominadas *factores de crecimiento*, la célula puede reiniciar el ciclo celular, completando la fase G₁, la replicación del ADN y la mitosis. La progresión a través del ciclo celular está controlada por una familia de *proteína quinasas*, las *quinasas dependientes de ciclinas* (CDK), que se activan al interaccionar con unas pequeñas proteínas, las *ciclinas*, cuya concentración varía regularmente a lo largo del ciclo. Existen varios tipos de ciclinas, y cada una de las fases del ciclo se corresponde con la presencia en la célula de una dotación de ciclinas característica. Por ejemplo, la concentración de ciclina A es máxima en la fase S, y la de las ciclinas D y E en la fase G₁ de células estimuladas por factores de crecimiento. Cada ciclina activa determinadas CDK y las dirige hacia proteínas reguladoras específicas, que son fosforiladas diferencialmente en los momentos precisos del ciclo celular donde se exprese la ciclina correspondiente.

Una de las principales proteínas reguladoras que intervienen en la integración de estímulos extracelulares en la fase G₁ es la *proteína del retinoblastoma*, o proteína Rb (Fig. 27-2). La proteína Rb es sustrato de la CDK4. CDK4 se activa por ciclina D, cuya concentración en la fase G₁ aumenta en respuesta a factores de crecimiento. La proteína Rb no fosforilada se asocia con factores de transcripción de la familia E2F. Este factor controla la expresión de genes relacionados con la replicación del ADN, imprescindibles para el paso a través de la fase S del ciclo celular. La asociación de Rb y E2F «secuestra» al factor de transcripción, negándole su función activadora. La activación de CDK4 por la ciclina D conduce a la fosforilación de la proteína Rb. La forma fosforilada pierde afinidad por el factor E2F, que se libera y activa la transcripción de los genes necesarios para completar la fase S. A continuación, la proteína Rb se desfosforila progresivamente, alcanzando su nivel mínimo de fosforilación en la fase M.

La actividad de las CDK está regulada, además de por ciclinas, por una familia de proteínas citosólicas que actúan como inhibidores potentes de su actividad fosforilante (Fig.

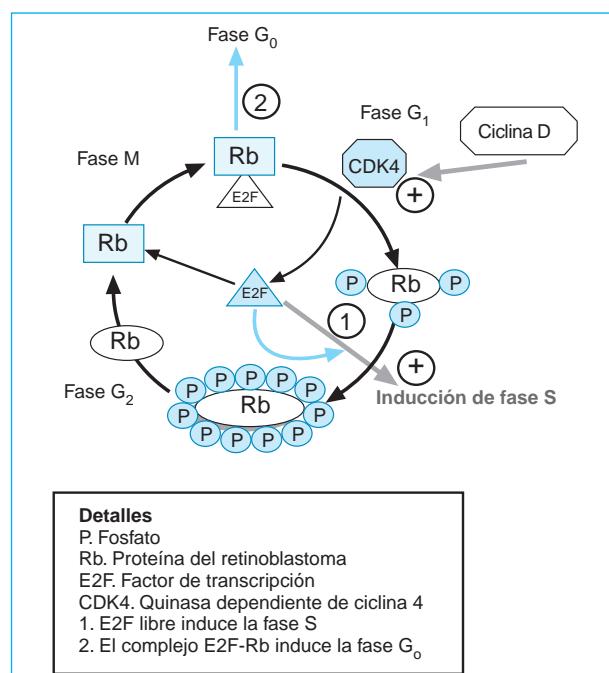


Figura 27-2. Papel de la proteína del retinoblastoma (Rb) en el control del ciclo celular. La proteína Rb es uno de los principales reguladores del ciclo celular, a través de su capacidad de secuestrar al factor de transcripción E2F, y de su fosforilación por quinasas dependientes de ciclina. Cuando está libre, este factor puede estimular la transcripción de los genes necesarios para la división celular. La capacidad de Rb para secuestrar al factor E2F depende de su nivel de fosforilación. La proteína hipofosforilada puede unir y mantener inactivo a E2F. La forma fosforilada por CDK4 (o CDK6) libera al factor y permite su efecto transcripcional.

27-3). Algunos de estos *inhibidores de las CDK*, como la proteína p27, son sensibles a señales extracelulares y, por tanto, participan en la integración de los estímulos mitógenos y citostáticos en la fase G₁. Por ejemplo, el *factor de crecimiento transformante β* (TGFβ) inhibe fuertemente el crecimiento de muchas células epiteliales. Para ello, TGFβ aumenta los niveles intracelulares de p27, lo que inactiva al complejo ciclina D-CDK4 e impide la fosforilación de Rb. Por tanto, los estímulos mitógenos y citostáticos convergen en la proteína Rb que, a través de cambios en su estado de fosforilación, actúa como sensor intracelular de las señales reguladoras de la proliferación. Además de p27, existen otros inhibidores de las CDK como p15, p16, p18 o p19, que bloquean la proliferación celular en la fase G₁. El funcionamiento correcto de estos inhibidores es esencial para que la proliferación transcurra controladamente, por lo que no es de extrañar que mutaciones en los genes que los codifican sean un acontecimiento genético muy frecuente en el cáncer.

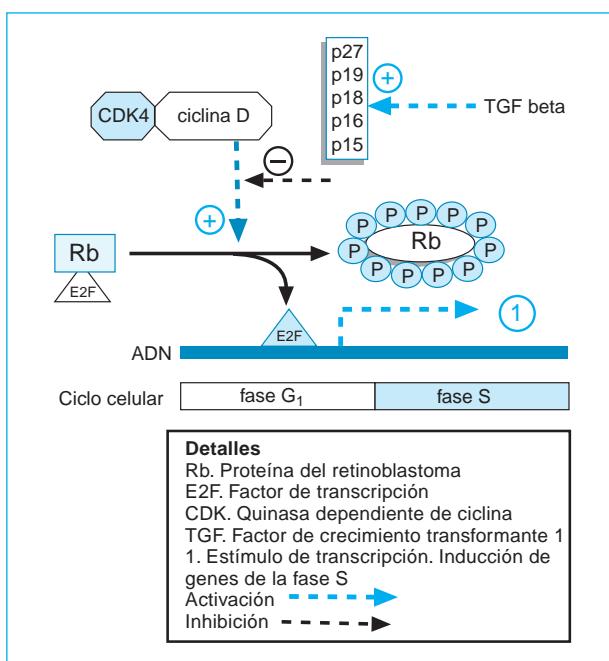


Figura 27-3. Los inhibidores de CDK4 impiden la progresión a través del ciclo celular, al bloquear la fosforilación de la proteína Rb. La actividad enzimática del complejo CDK4-ciclina D puede inhibirse por proteínas citosólicas de la familia de p27 que, a su vez, se inducen por señales extracelulares inhibidoras de la proliferación. La inhibición de la actividad quinasa de los complejos mantiene a la proteína Rb en un estado de baja fosforilación. En estas condiciones, E2F se encuentra secuestrado por Rb y la progresión a través del ciclo celular está bloqueada.

27.2.2 Modo de acción de los factores de crecimiento

Los factores de crecimiento se unen a receptores específicos de la membrana plasmática y producen una serie de cambios intracelulares que conducen a modificaciones en el nivel de expresión de los genes reguladores del crecimiento. Al igual que las hormonas polipeptídicas, con las que guardan muchas similitudes, los factores de crecimiento requieren un mecanismo de transducción de señales (véase el Cap. 12) para que su unión en la cara extracelular de la membrana plasmática de la célula diana determine una serie de cambios intracelulares. Uno de los factores mejor caracterizados en este sentido es EGF, o factor de crecimiento epidérmico, que puede servir de modelo. Las células diana poseen receptores específicos para el EGF, que son glicoproteínas integrales de membrana en las que se distinguen varios dominios. El dominio extracelular, glicosilado, contiene el sitio de unión para el EGF. Una porción transmembrana conecta la parte extracelular con el dominio intracelular. Este dominio posee la capacidad de fosforilar proteínas a expensas de ATP. La actividad *proteína quinasa* del receptor es parte esencial del mecanismo de transducción de señales, y se manifiesta únicamente en presencia de EGF (Fig. 27-4). El receptor libre es enzimáticamente inactivo, pero la unión de EGF al dominio extracelular provoca un cambio conformacional que se comunica a la zona intracelular a través del fragmento transmembrana, confiriéndole actividad *proteína quinasa*. Las fosforilaciones catalizadas por el receptor activado se producen únicamente

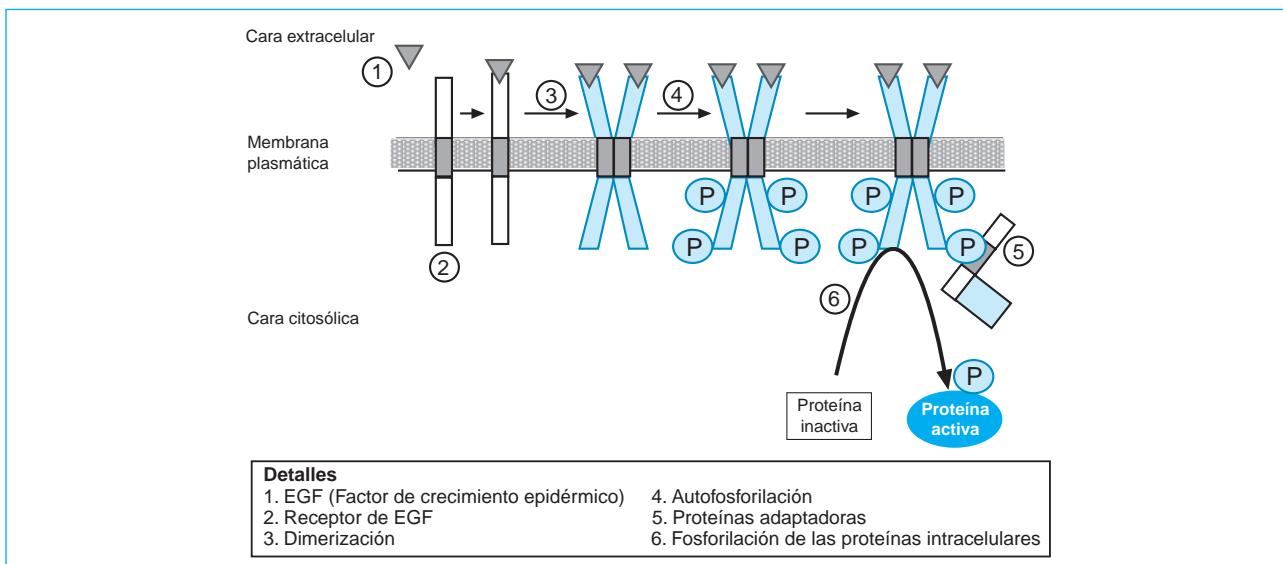


Figura 27-4. Activación del receptor de EGF. La unión del EGF al dominio extracelular del receptor provoca un cambio conformacional que desencadena la actividad tirosina quinasa del dominio intracelular. El receptor puede fosforilar proteínas intracelulares y también, autofosforilarse para interaccionar con otras proteínas.

sobre residuos de tirosina. El receptor de EGF es, por tanto, una *tirosina quinasa* activada por ligando.

Además de fosforilar proteínas intracelulares, el receptor de EGF es capaz de autofosforilarse. La autofosforilación incrementa la actividad catalítica del receptor y le permite interaccionar con proteínas citosólicas esenciales para la transducción de la señal. En efecto, los residuos de fosfotirosina del dominio citoplasmático son reconocidos con una alta afinidad y especificidad por proteínas que contienen en su estructura los denominados dominios SH. Una vez unidas al receptor, estas proteínas resultan fosforiladas. Además, algunas proteínas con dominios SH actúan como adaptadoras, reconociendo al receptor fosforilado a través del dominio SH, y a otras proteínas mediante otras zonas de la molécula. Este proceso se da en la principal cascada mitógena caracterizada hasta el presente, la de las *MAP quinasas* o *MAPK* (del inglés *mitogen activated protein kinases*: proteína quinasa activadas por mitógenos), resumida en la Figura 27-5. El receptor autofosforilado interacciona con la proteína

adaptadora Grb2, que, a su vez, recluta una pequeña proteína soluble llamada mSos. El complejo Grb2-mSos capta una proteína con capacidad de unión de nucleótidos de guanina, la proteína *Ras* o *p21^{ras}*. En su forma libre, *p21^{ras}* se encuentra unida a GDP. Sin embargo, su unión al complejo receptor-Grb2-mSos provoca el intercambio de GDP por GTP. *p21^{ras}* sufre entonces un cambio conformacional y adquiere capacidad de interaccionar con una *quinasa* citoplasmática, la proteína *Raf*, que resulta activada. La cascada de transducción continúa con la fosforilación por *Raf* de otra proteína enzimática, denominada *MEK* o *MAPK quinasa*. Esta enzima, activa en su forma fosforilada, posee una especificidad dual y es capaz de fosforilar a otras quinasas en residuos de tirosina, serina o treonina. Los principales sustratos de *MEK* son las *MAPK*, que, tras su fosforilación, resultan activadas.

Las *MAPK* fosforiladas se transportan desde el citoplasma hasta el núcleo celular, donde actúan sobre algunos factores de transcripción, fosforilándolos a expensas de ATP. Ello conduce a cambios en la expresión génica de la célula diana. La cascada de transducción de señales de las *MAPK* es rápida. Las *MAPK* resultan fosforiladas algunos minutos tras la unión del factor de crecimiento, y los primeros cambios en la expresión génica pueden detectarse aproximadamente a la media hora. Los primeros genes activados (*genes tempranos*) corresponden, a menudo, a nuevos factores de transcripción que regulan a su vez la expresión de otros genes, como el de la ciclina D, implicados en la progresión a través del ciclo celular. Por tanto, la señal proporcionada por el factor de crecimiento extracelular ha viajado rápidamente hasta el núcleo en forma de cambios secuenciales en el estado de fosforilación de proteínas que, a su vez, determinan cambios en su capacidad de interaccionar con otras proteínas y en su actividad enzimática. El resultado final es un cambio en el patrón de expresión génica de la célula diana.

El efecto del EGF, como el de los demás factores de crecimiento, es reversible. Después de su formación, el complejo EGF-receptor es internalizado por endocitosis. Las vesículas endocíticas se unen a los lisosomas, donde el ligando y su receptor son degradados por proteasas. Este proceso es análogo al que ya se ha estudiado en relación con el metabolismo del colesterol y las lipoproteínas (véase el Cap. 15). Por otra parte, la acción de *proteína fosfatasa* restituye el estado de fosforilación basal de las proteínas de la cascada, inactivándola. La inactivación de *Ras* se produce por un mecanismo análogo al que se comentó para las proteínas G que actúan en el acoplamiento de receptores hormonales a sus sistemas de transducción de señales (véase el Cap. 12). Como estas proteínas, *Ras* posee una actividad *GTPasa* residual, que hidroliza el GTP unido con baja eficiencia. *Ras* pasa entonces a la forma inactiva, unida a GDP. Las mutaciones que inactivan esta capacidad *GTPasa* de *Ras* condu-

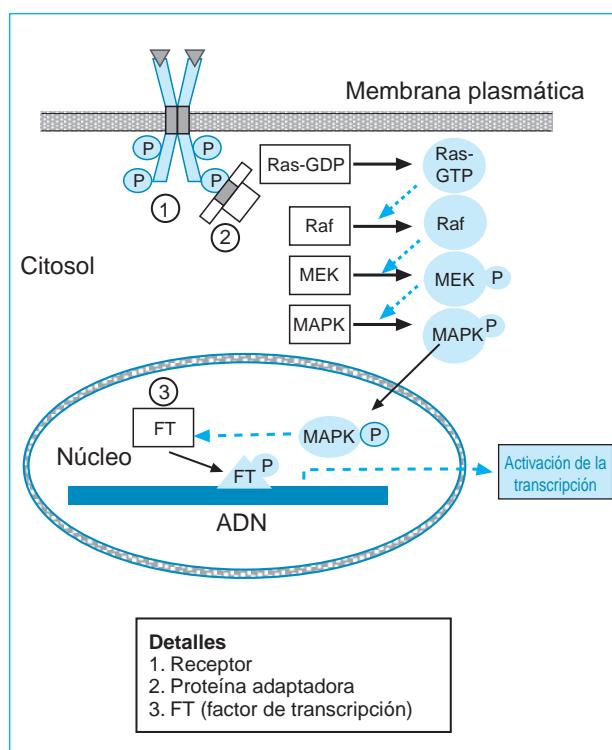


Figura 27-5. Principales componentes de la cascada mitógena de las MAPK. La activación de Ras tras su unión a receptores de factores de crecimiento desencadena una serie de fosforilaciones activadoras en cascada, que culminan con la fosforilación de MAPK. En su forma fosforilada, las MAPK son activas y se translocan al núcleo. Una vez en el núcleo, las MAPK activan por fosforilación factores de transcripción que promueven la proliferación celular.

cen, por tanto, a una proteína más activa, y son importantes en el desarrollo de algunos tipos de cáncer.

La actividad *tirosina quinasa* del receptor de EGF es regulable por señales distintas a la presencia del ligando. El dominio citoplasmático puede fosforilarse en residuos de serina y treonina por las *proteína quinasas A* y *C* que, como se recordará, se activan en respuesta a numerosos estímulos hormonales. Esta fosforilación disminuye la actividad quinasa del receptor y acelera la internalización y degradación del complejo receptor-EGF. La velocidad a la que una célula experimenta sucesivas divisiones mitóticas está, por tanto, sometida a una regulación compleja, resultado de la integración de muchas señales distintas.

27.2.3 Senescencia celular

La *senescencia celular* es el proceso por el cual las células somáticas normales dejan de proliferar después de un número determinado de divisiones. Este número es de algunas decenas de divisiones para la mayoría de las células de mamífero en cultivo, aunque varía de un tipo celular a otro y, también, en función de las condiciones del medio. La senescencia está controlada por la modificación del nivel de expresión de una serie de genes, algunos de los cuales deben reprimirse mientras que otros se activan durante el proceso. Por ejemplo, durante el desarrollo normal de las células somáticas humanas, la senescencia parece correlacionarse con la pérdida de la subunidad catalítica de la *telomerasa* (véase el Cap. 19), como consecuencia de la falta de expresión del gen correspondiente.

Otro *locus* genético determinante de la senescencia es el *locus INK4A-ARF*, que posee la característica muy poco común de codificar dos proteínas distintas, mediante el empleo de dos pautas de lectura diferentes y solapadas. Estas dos proteínas son INK4A, también denominada p16, y ARF, también llamada p19^{Arf} en el ratón y p14^{ARF} en el ser humano. Las dos proteínas derivadas del *locus* son inhibidores potentes de la proliferación celular e inductores de la senescencia (Fig. 27-6). El efecto de p16 se relaciona con su capacidad de actuar como inhibidor de las *quinasas* dependientes de ciclina, *CDK4* y *CDK6*. Como consecuencia de esta inhibición la proteína Rb se mantiene activa, con un nivel bajo de fosforilación y con capacidad para complejarse el factor de transcripción E2F e inhibir el ciclo celular. El papel de ARF es más complejo y parece mediado por la proteína p53, un factor de transcripción que activa la expresión de otro inhibidor de *CDK*, la p21^{WAF}. El resultado final es, como en el caso de p16, el mantenimiento del estado hipofosforilado activo de la proteína Rb y el bloqueo del ciclo celular. La inducción de p53 por ARF es independiente de la expresión del gen p53 y se verifica por

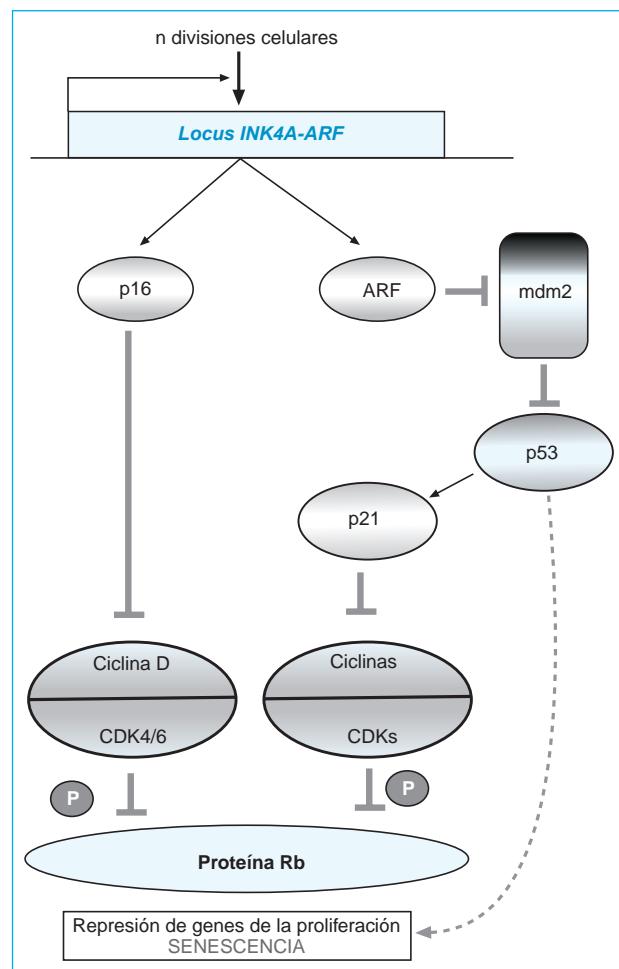


Figura 27-6. Papel del locus INK4A-ARF en la regulación de la senescencia celular. Puesto que el locus INK4A-ARF da lugar a dos productos proteicos distintos, la vía que se origina en este locus tiene dos ramas, la de p16 y la de ARF. Ambas vías median una inhibición de la actividad quinasa de complejos CDK-cyclinas. Además, ARF, a través de p53, puede tener efectos sobre el nivel de transcripción de algunos genes. Las dos ramas derivadas del locus cooperan en el control de la senescencia celular, aunque su importancia relativa puede variar de un tipo celular a otro.

una estabilización de la proteína, al inhibir su degradación. En efecto, ARF inhibe fuertemente la actividad de otra proteína, la mdm2, que es requerida para la ubiquitinación de p53, que marca esta proteína para su degradación por el proteasoma. Al inhibir la ubiquitinación y degradación de p53, la concentración intracelular de la proteína crece y su efecto sobre la transcripción se hace aparente. Además de inducir el inhibidor de la proliferación p21^{WAF}, p53 podría completar su acción reprimiendo la expresión de genes inductores de la proliferación.

La senescencia es, en cierto modo, un proceso opuesto a la carcinogénesis, ya que las células cancerosas son inmortales y pueden dividirse indefinidamente. Por ello no es de extrañar que muchos de los genes que controlan la senescencia celular normal estén mutados en distintos tipos de cáncer. De hecho, las mutaciones del *locus INK4A-ARF* son comunes en el melanoma, y las del *p53* son frecuentes en muchos tumores humanos (véase el Cap. 29).

27.3 CITOQUINAS

Las *citoquinas* son un grupo numeroso de moléculas de señalización intercelular, de expresión inducible, que regulan el crecimiento y la diferenciación de muchos tipos celulares. En este sentido, los factores de crecimiento pueden considerarse un tipo de citoquinas. Las citoquinas suelen ser moléculas pleiotrópicas: tienen una gran variedad de efectos y son capaces de actuar, a veces en sentido opuesto, sobre distintos tejidos o tipos celulares. Por ejemplo, el TGF β es un inhibidor potente del crecimiento de células epiteliales, pero, sin embargo, activa la proliferación de células de origen mesenquimal.

El carácter pleiotrópico de las citoquinas, su producción por muchos tipos celulares y su capacidad de actuar sobre numerosos tejidos, hacen imposible establecer aquí una relación pormenorizada de sus funciones. Además, la respuesta final a una determinada citoquina depende de varios factores, esencialmente el tipo de célula diana y su estado de proliferación y diferenciación, pero, también, la presencia de otras citoquinas. Sin embargo, es posible establecer algunas características comunes, tanto estructurales como funcionales.

En general, las citoquinas son proteínas pequeñas con un rango de acción paracrino o autocrino. Su síntesis o secreción, o ambos, por la célula productora es muy baja en condiciones normales, pero se induce en presencia de los estímulos apropiados, que pueden ser, tanto de naturaleza química, como física. Una vez liberadas, las citoquinas actúan sobre las células diana mediante su unión a receptores específicos de la membrana plasmática. Estos receptores pueden ser de varios tipos. Algunas citoquinas se unen a receptores acoplados a proteínas G. Otras, como los factores de crecimiento del tipo del EGF, son reconocidas por receptores con actividad *proteína quinasa* activados por unión del ligando. Por último, muchas citoquinas poseen receptores sin actividad enzimática intrínseca, pero capaces de activar *quinasas* intracelulares.

En cualquier caso, las citoquinas disparan cascadas de transducción de señales que pueden culminar en el control de la actividad de factores de transcripción nucleares, con los cambios consiguientes en la expresión génica de la célula diana.

Algunos grupos de citoquinas actúan concertadamente en el establecimiento e integración de programas biológicos complejos. Por ejemplo, las *interleuquinas* (IL) son factores de crecimiento y diferenciación intercambiados por los linfocitos, en respuesta a la presencia de antígenos. La acción concertada de IL-1 e IL-2, liberadas por los macrófagos tras el procesamiento de un antígeno, y por los linfocitos T tras su unión a los macrófagos activados, promueve la proliferación de poblaciones de linfocitos B y la producción por estas células de anticuerpos específicos contra el antígeno que originó la señal. Además, IL-1 induce inflamación y fiebre, en respuesta a la presencia de antígenos externos, jugando un papel esencial en la inflamación aguda. La IL-6 es también un mediador importante de la respuesta inflamatoria e inmunitaria en situaciones de infección o traumatismos.

Otro tipo de citoquinas, las *quimioquinas*, son proteínas pequeñas inducibles, de 8 a 10 kDa de masa molecular, que también participan en los procesos inflamatorios e inmunitarios a través de su capacidad de inducir la quimiotaxis de algunos tipos de leucocitos. Estos son atraídos hacia la zona de liberación de la quimioquina, y activados. El efecto de las quimioquinas está mediado por receptores de membrana acoplados a proteínas G. Recientemente, se ha demostrado que uno de los receptores para quimioquinas, el CCR-5, es un coreceptor utilizado por el virus VIH para su entrada en los macrófagos. Algunos individuos expresan una forma mutada del receptor CCR-5 que no es reconocida por el virus, de manera que son mucho más resistentes a la infección por VIH que el resto de la población.

27.4 CONTROL GENÉTICO DEL DESARROLLO

El desarrollo de un organismo adulto supone, además de la proliferación celular a partir del huevo fecundado, la diferenciación de líneas celulares que darán lugar a las distintas estructuras y tejidos corporales. La diferenciación celular puede definirse como el desarrollo a partir de una célula original de poblaciones celulares especializadas morfológica y funcionalmente, siguiendo un patrón temporal y espacial perfectamente definido. Puesto que todas las células somáticas de un organismo poseen la misma información genética, la existencia de tipos celulares distintos depende de diferencias cuantitativas y cualitativas en la expresión de genes determinados. La regulación diferencial de la expresión génica en el tiempo y el espacio es la clave de los procesos de desarrollo y diferenciación. Consiguentemente, la mayoría de los genes importantes para estos procesos identificados hasta el presente corresponden a factores de transcripción, o a moléculas de señalización que controlan la actividad de éstos. Estos genes actúan de forma jerárquica y regulan la aparición de estructu-

ras diferenciadas a partir del óvulo fecundado. Su actividad queda a menudo restringida al período de desarrollo embrionario y, en la mayoría de los casos, sus productos génicos no están presentes en el organismo adulto.

El organismo superior mejor conocido desde el punto de vista de la genética del desarrollo es sin duda la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*. Por ello, la siguiente exposición se refiere sobre todo al control del desarrollo en este insecto, pero los principios generales parecen aplicables al resto de los organismos.

27.4.1 Influencia de los genes maternos en el desarrollo embrionario

En *Drosophila*, el huevo fecundado contiene los dos núcleos parentales, que, en los primeros estadios del embrión, se dividen sin separarse en células individualizadas, formando una estructura sincitial o plurinucleada. Tras la novena división, los núcleos migran a la periferia del huevo, y se rodean de una membrana formando una capa celular carente de organización (Fig. 27-7). Así, los núcleos procedentes de las primeras divisiones están inmersos en el citoplasma del oocito, que contiene proteínas sintetizadas de acuerdo con la información genética materna. Ello posibilita que las prime-

ras etapas del desarrollo se controlen por *genes maternos*, expresados en el óvulo, incluso antes de la fecundación. Las proteínas codificadas por estos genes son factores de transcripción, que regulan específicamente la expresión de un segundo grupo de genes reguladores del desarrollo.

La distribución de los factores de transcripción maternos en el interior del oocito es asimétrica. Estos factores se distribuyen formando gradientes de concentración, que definen los ejes anteroposterior y dorsoventral. Debido a esta asimetría, los núcleos de la etapa embrionaria sincitial están regulados de forma distinta, dependiendo de su posición, y expresan proteínas diferentes. Estos núcleos comienzan a expresar de forma específica nuevos factores de transcripción, denominados *morfógenos*, ya que su presencia en una determinada región dirige la diferenciación de las células presentes en esa zona hasta dar lugar a una determinada estructura corporal. Cuando se alcanza el estadio de blastodermo celular, los genes maternos pierden importancia, y el desarrollo se rige, a partir de entonces, por productos génicos de los núcleos hijos. Estos nuevos morfógenos varían de una zona a otra del embrión, como consecuencia de la distribución asimétrica original de morfógenos maternos, y definen regiones progresivamente más concretas del organismo.

Así, mientras que los morfógenos maternos apenas determinan los dos ejes del cuerpo, los factores de transcripción activados por éstos dirigen la formación de segmentos que darán lugar, posteriormente, a las estructuras definitivas del adulto. Una vez que estos segmentos comienzan a formarse en un primer estadio de diferenciación, interacciones específicas entre las células ligeramente distintas presentes en cada segmento contribuyen a refinar y profundizar su diferenciación, mediante mecanismos de comunicación intercelular análogos a los descritos en otros capítulos.

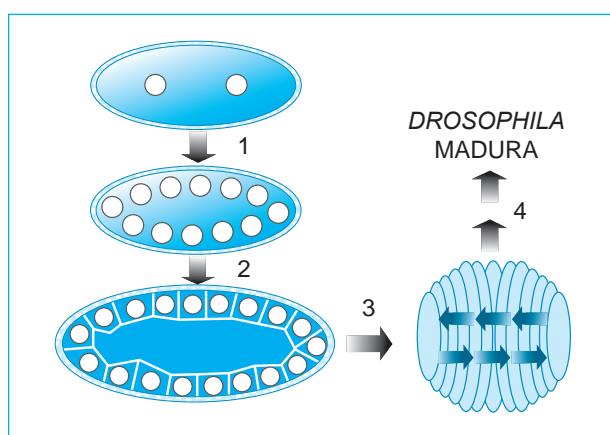


Figura 27-7. Control genético del desarrollo de *Drosophila*. 1. Durante las primeras divisiones, los núcleos se encuentran en el citoplasma del oocito formando una estructura sincitial, y están regulados de forma diferente debido a los gradientes de concentración de factores de transcripción maternos. 2. Tras varias divisiones, los núcleos migran a la periferia formando células independientes. 3. Factores de transcripción producidos por estas células dirigen el desarrollo de los distintos segmentos. 4. Los segmentos expresan distintos genes homeóticos que determinan su diferenciación final. Ésta se refina por el intercambio de mensajeros químicos paracrinos entre segmentos adyacentes. Ni el número de núcleos hijos ni el de segmentos de la figura se corresponden con los reales.

27.4.2 Genes homeóticos

En *Drosophila*, los segmentos blastodérmicos individuales no poseen un destino final totalmente determinado, y mutaciones en una familia de genes, los *genes homeóticos*, pueden transformar parte o la totalidad de un segmento, haciendo, por ejemplo, que se forme una antena en lugar de una pata, o que los élitros se desarrollen como alas verdaderas. Los genes homeóticos se agrupan en grandes complejos, y su modo de acción parece semejante al de otros genes reguladores del desarrollo. Cada segmento blastodérmico expresa distintos genes homeóticos, de acuerdo con la posición del segmento en el embrión, y de los genes homeóticos en su complejo. Los productos de los genes homeóticos son, una vez más, factores de transcripción, capaces de unirse al ADN y dirigir la expresión de nuevos factores reguladores o de proteínas estructurales. La unión al ADN se produce a través de zonas específicas de

la proteína, los denominados *dominios homeóticos*, que están codificados por secuencias muy conservadas. Estas secuencias, las *cajas homeo*, se encuentran también en el genoma humano. Por ello, los principios generales que rigen el desarrollo embrionario en *Drosophila* parecen ser también aplicables al resto de los organismos superiores.

27.5 ASPECTOS BIOQUÍMICOS DE LA DIFERENCIACIÓN Y EL DESARROLLO

La expresión de los genes que codifican los morfógenos está regulada, inicialmente, por la distribución no homogénea de factores de transcripción de origen materno, pero rápidamente pasa a depender de productos génicos embrionarios. Esto hace que el proceso de control de la diferenciación celular a lo largo del desarrollo adquiera progresivamente una mayor complejidad. Desde que empiezan a aparecer poblaciones celulares diferenciadas, la comunicación entre una célula y las circundantes comienza a producir señales químicas específicas, que afectan a su diferenciación. Estos mensajes químicos pueden ser de varios tipos, y tienen especial importancia las hormonas, los factores de crecimiento y diferenciación (Recuadro 27-1), y las interacciones entre los componentes de la membrana celular.

27.5.1 Influencia de agentes hormonales y de factores de crecimiento

La influencia de las hormonas en el crecimiento y la diferenciación es bien conocida. En los anfibios, las hormonas tiroideas y de origen hipofisario regulan la transformación de los alevines en adultos. En los mamíferos, algunas hormonas esteroideas determinan el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios y, en general, la diferenciación y la supervivencia celular están sometidas a regulación hormonal (véase el Cap. 12). Además de estos efectos, las hormonas también participan en el desarrollo embrionario, pudiendo ser producidas por el propio embrión, incluso antes de la diferenciación de la glándula endocrina correspondiente. Así, los óvulos de algunas aves contienen tanto insulina como su receptor. Tras la fertilización, los embriones expresan receptores de insulina funcionales, y la administración *in utero* de insulina exógena acelera su desarrollo morfológico y bioquímico.

Las células embrionarias producen también desde etapas muy tempranas del desarrollo factores de crecimiento, que actúan sobre las células vecinas induciendo su proliferación y modificando su grado de diferenciación. El mediador químico de este tipo mejor caracterizado es, quizás el *factor de crecimiento nervioso* (NGF), un polipéptido que estimula la

Recuadro 27-1. LA CASCADA DEL RECEPTOR cKIT Y EL DESARROLLO DE LOS MELANOCITOS

La proliferación y la supervivencia de las células eucarióticas requieren la presencia de moléculas de señalización que actúan a través de receptores específicos de la membrana plasmática. De acuerdo con este modelo, un fallo genético que afecte a la molécula de señalización debe tener consecuencias muy parecidas a un defecto en el receptor correspondiente. La genética proporciona algunos ejemplos de este tipo. En los ratones, mutaciones en los genes *Steel* (*Sl*) o *White spotting* (*W*) producen un fenotipo característico, con falta prácticamente completa de pigmentación cutánea, a menudo, asociada con sordera. Ambos defectos se deben a la ausencia de melanocitos en los adultos. Estas células son las responsables de la síntesis de melani-

nas, y están presentes, en condiciones normales, en la epidermis y en algunas localizaciones extracutáneas, como la estría vascular del oído interno.

El análisis molecular de los genes *Sl* y *W* ha revelado que el primero codifica una proteína de señalización, el factor Steel, mientras que el segundo codifica un receptor de membrana con actividad *tirosina quinasa*, llamado ckit, controlado por la unión del ligando Steel. La proteína Steel actúa como factor de supervivencia para los melanoblastos, que son las células precursoras de los melanocitos maduros. Este efecto se explica porque la unión de Steel a ckit desencadena una cascada de fosforilaciones intracelulares cuyo resultado final es la inhibición de la muerte celular por apoptosis.

Durante las primeras etapas del desarrollo embrionario, los melanoblastos migran desde la cresta neural hasta las localizaciones que deberán ocupar los

melanocitos en el adulto. En ratones con mutaciones inactivadoras de *Steel* o de *ckit*, la migración de las células precursoras se produce normalmente, pero los melanoblastos entran en apoptosis al llegar a su destino, por lo que los melanocitos no están presentes en el adulto. La piel no adquiere los pigmentos melánicos responsables de su coloración y, en el oído interno, la falta de melanocitos en la estría vascular interfiere con la formación de los potenciales de reposo que permiten transformar los estímulos sonoros en impulsos nerviosos.

Además de los defectos en la pigmentación, las mutaciones en los genes *Sl* o *W* producen anemia, y esterilidad total o parcial. Ello se debe a que la cascada de señalización desencadenada por Steel y ckit, no sólo está presente en los melanoblastos, sino también en las células germinales y en células de la médula ósea precursoras de los glóbulos rojos.

diferenciación de las neuronas simpáticas y algunas neuronas sensoriales. La adición de NGF a cultivos de células nerviosas determina la aparición de largas terminaciones dendríticas y aumenta el tiempo de supervivencia de las células en cultivo. En gradientes de NGF, las dendritas crecen principalmente hacia las zonas de mayor concentración. Este comportamiento quimiotáctico tiene gran importancia en el desarrollo del sistema nervioso, durante el cual los axones deben crecer siguiendo trayectos preestablecidos. La producción de NGF por células localizadas en áreas precisas del embrión dirigiría hacia esas zonas los axones de las neuronas simpáticas o sensoriales.

27.5.2 Influencia de los contactos entre componentes de la membrana plasmática

Las células pueden comunicarse entre sí, además de a través de mensajeros químicos secretados al exterior, mediante interacciones entre componentes de su membrana plasmática. La importancia de estas interacciones es especialmente evidente en la diferenciación de células polarizadas. Son ejemplos las células endoteliales de las paredes de los vasos y capilares sanguíneos, o las células epiteliales de la mucosa intestinal, una de cuyas caras está en contacto con una membrana basal, mientras que el borde en cepillo queda enfrentado a la luz intestinal. Estas células sólo se diferencian si se cultivan sobre una capa de tejido conjuntivo, a la que se adhieren. Del mismo modo, los odontoblastos sólo fabrican dentina cuando interactúan con una membrana basal.

En este tipo de procesos de diferenciación juegan un papel esencial las proteínas de adhesión celular, que cuando interactúan con otras proteínas de membrana o de la matriz extracelular, son capaces de desencadenar cascadas de transducción de señales análogas a las descritas hasta ahora. El grupo más importante de moléculas de adhesión es el de las integrinas. Las integrinas son heterodímeros compuestos por una subunidad α variable y otra subunidad β , de menor tamaño y más conservada. Contienen un dominio extracelular grande responsable del establecimiento de interacciones específicas, y un único fragmento transmembrana. Las integrinas se unen con baja afinidad a sus ligandos de la matriz extracelular.

En ausencia de estímulos externos, las integrinas difunden, más o menos libremente, en el plano de la membrana y no presentan suficiente fuerza adhesiva para unirse de forma estable a la matriz extracelular. En presencia de determinados estímulos, las integrinas se agrupan en puntos de la membrana, denominados *contactos focales*. Cuando un cierto número mínimo de integrinas se encuentra localizado en estos puntos, la fuerza combinada de sus interacciones proporciona una región de contacto con la suficiente afinidad

para adherirse fuertemente a la matriz extracelular. Además, el agrupamiento y la unión de las integrinas a componentes de la matriz extracelular produce un cambio conformacional en su porción citoplasmática que permite activar sistemas de señalización. Por ejemplo, las integrinas pueden activar *quinasas* citosólicas como *Src* y *FAK* (*quinasa* de adhesión focal).

Esta última es capaz de activar a la proteína Ras y, por tanto, a las MAPK (Fig. 27-5), al igual que lo hacen los receptores de los factores de crecimiento. A través de estas vías de señalización, las integrinas participan en el control de la proliferación y la diferenciación celular.

Otras moléculas implicadas en los contactos intercelulares participan también en la regulación del estado de proliferación y diferenciación por mecanismos que no implican directamente la activación de *quinasas* intracelulares. Por ejemplo, la E-cadherina une por su porción intracelular una proteína con actividad de factor de transcripción, la β -catenina, y la secuestra en la cara interna de la membrana plasmática. En forma libre, β -catenina se transporta al núcleo, donde activa la expresión de genes de proliferación celular, de manera que su unión a E-cadherina inhibe la proliferación al interferir con la expresión de estos genes. La importancia de esta vía queda de manifiesto por la frecuencia de mutaciones en la β -catenina o en otras moléculas implicadas en la regulación de su actividad en muchos tipos de tumores humanos.

Por tanto, la adquisición y el mantenimiento de características diferenciadas responde, en parte, a la unión de mensajeros químicos a receptores específicos de la membrana plasmática. Tras la activación correspondiente de sus receptores, se desencadenan procesos de fosforilación específica de proteínas intracelulares, que culminan en la modulación de la actividad de factores de transcripción reguladores de la expresión génica. En la diferenciación inducida por hormonas esteroideas, el receptor específico es una proteína citoplasmática o nuclear, que actúa como factor de transcripción controlado por la unión de la hormona. En cualquier caso, la diferenciación refleja el uso selectivo por cada tipo celular de una parte precisa del material genético para dar lugar a las proteínas necesarias para llevar a cabo sus funciones especializadas.

27.6 APOPTOSIS

27.6.1 Funciones y características morfológicas de la muerte celular

El mantenimiento de la homeostasis tisular supone un equilibrio entre los procesos de proliferación, diferenciación y *muerte celular*. El crecimiento de un tejido se produce cuan-

do el número de divisiones mitóticas es superior a la velocidad de la muerte celular. Por el contrario, cuando la muerte celular no se compensa por un número equivalente de divisiones celulares, las estructuras implicadas experimentan una regresión y pueden llegar a desaparecer. Esta involución puede darse en condiciones normales, como el envejecimiento o en algunas etapas del desarrollo embrionario, durante el que se forman algunas estructuras que, posteriormente, sufren procesos de regresión hasta desaparecer en el adulto. También se da en situaciones patológicas. Por tanto, para comprender el desarrollo y el mantenimiento de un organismo es tan importante estudiar los mecanismos que regulan el crecimiento como los que dirigen la muerte celular.

Se han descrito dos tipos básicos de muerte celular, que se diferencian por su regulación, por los mecanismos bioquímicos implicados y por criterios morfológicos. La *apoptosis* es un tipo de muerte celular controlado y dirigido genéticamente, que normalmente tiene una función biológica precisa. Se denomina también *muerte celular programada* y es una parte esencial del desarrollo. Por contraposición, la *necrosis* es normalmente un proceso accidental originado por causas externas a la célula, como agresiones físicas o químicas graves. La necrosis no parece cumplir ninguna función fisioló-

gica y, normalmente, afecta a masas celulares dentro de un tejido, más que a células individuales. Normalmente, las causas que determinan la apoptosis o la necrosis celular son diferentes, aunque en algunos casos, como el estrés oxidativo, el mismo tipo de estímulo nocivo puede conducir a los dos tipos de muerte celular, dependiendo de su intensidad (Recuadro 27-2).

Los cambios morfológicos característicos de la apoptosis incluyen pérdida de la simetría y de la capacidad de adhesión de la membrana plasmática, condensación del citoplasma y del núcleo, y rotura internucleosomal del ADN. Las alteraciones en la membrana plasmática son uno de los acontecimientos más tempranos y parecen relacionarse con una translocación del fosfolípido fosfatidilserina (PS) desde la cara interna de la bicapa lipídica hasta la externa. El aumento de la PS expuesta al medio extracelular determina una mayor unión de anexina V, una proteína ligante de fosfolípidos con alta afinidad por PS. La unión de anexina V precede a la pérdida de integridad de la membrana, que se produce en las etapas finales del proceso. Entonces, la célula se fragmenta dando lugar a los denominados *cuerpos apoptóticos*, que son rápidamente fagocitados por células vecinas o por macrófagos, sin que se produzca inflamación ni daño de las

Recuadro 27-2.

EL ESTRÉS OXIDATIVO Y LA MUERTE CELULAR

La apoptosis y la necrosis suelen considerarse procesos mutuamente excluyentes, pero en la práctica puede resultar difícil distinguirlas, ya que es posible encontrar simultáneamente células apoptóticas y necróticas en un mismo tejido. Además, en algunos casos, un mismo tipo de estímulo nocivo puede desencadenar uno u otro tipo de muerte celular, en función de su intensidad. Un ejemplo es el daño oxidativo debido a la producción de especies de oxígeno reactivas en las mitocondrias. Cuando este tipo de estrés oxidativo es intenso, la célula afectada puede morir por necrosis, mientras que un nivel de daño más moderado suele inducir preferentemente la apoptosis, por activación de *caspasas*. Sin embargo, las *caspasas* son *cisteína proteasas* y, como tales, dependen del estado de oxidación de

los residuos críticos de cisteína. Por ello, condiciones oxidantes como las que pueden aparecer como consecuencia de un estrés oxidativo alto, pueden inhibir, paradójicamente, las mismas *caspasas* que se activarían por un estrés más moderado. La inactivación de las *caspasas* produce un bloqueo de la apoptosis, lo que favorece la muerte celular por necrosis.

Uno de los mediadores posibles de esta «elección» entre muerte celular por necrosis o por apoptosis es la *poli(ADP-ribosa) polimerasa (PARP)*. Esta enzima participa en procesos de reparación del ADN y en la regulación de la transcripción. Al parecer, estas funciones dependen de su capacidad de disminuir el grado de condensación de la cromatina. La apertura de la cromatina facilitaría el acceso de enzimas reparadoras y de la maquinaria transcripcional. La PARP se activa por estrés oxidativo, y su actividad consume grandes cantidades de NAD⁺. Lógicamente, la célula

responde intentando reponer el NAD⁺ consumido, lo que supone un gasto energético muy elevado, que compromete las reservas de ATP intracelular. En condiciones de estrés oxidativo moderado, la PARP se activa inicialmente, pero recordemos que esta enzima es uno de los sustratos intracelulares de *caspasas*. Por eso, la activación subsiguiente de la cascada proteolítica de las *caspasas* acaba por reducir la actividad PARP, lo que a su vez evita la depleción del ATP o, mejor dicho, posibilita el uso del ATP remanente para ejecutar el programa apoptótico, que es dependiente de energía. Sin embargo, cuando el estrés oxidativo es lo suficientemente elevado, las *caspasas* resultan inhibidas, por lo que no llegan a revertir la activación de PARP. La apoptosis no puede producirse, y la consecuencia del consumo rápido e intenso de ATP, que acaba por agotar las reservas de energía celulares, no puede ser otra que la muerte por necrosis.

células circundantes. La muerte celular por necrosis comienza con el hinchamiento de las células y sus orgánulos, sobre todo, las mitocondrias. Posteriormente, la membrana celular se rompe y se liberan componentes celulares. Esta salida de material intracelular, incluyendo *enzimas proteolíticas* y otras *hidrolasas*, puede disparar una respuesta inflamatoria del tejido circundante.

La apoptosis cumple importantes funciones biológicas. Durante el desarrollo embrionario, participa en procesos como la eliminación de las membranas interdigitales, la fusión palatina o el desarrollo del sistema nervioso o de la mucosa intestinal. En el adulto, la apoptosis se produce de forma continua en los tejidos de crecimiento lento, como el hepático, contrarrestando el crecimiento mitótico del tejido. Además, la apoptosis contribuye a la eliminación de células defectuosas o con el material genético alterado, por lo que su funcionamiento correcto es un componente esencial de las defensas del organismo frente al cáncer. Las disfunciones de la regulación de la apoptosis pueden, por tanto, constituir la base molecular de procesos tan diferentes como la aparición de malformaciones congénitas, de muchos tipos de cáncer o de algunas enfermedades degenerativas. De hecho, además de con el cáncer, una regulación defectuosa de la apoptosis se ha relacionado con las enfermedades de Alzheimer y de Hodgkin, con el rechazo de injertos y de órganos trasplantados, con enfermedades autoinmunitarias y con el SIDA, entre otros trastornos.

27.6.2 La maquinaria apoptótica. Caspasas

Existen múltiples señales inductoras y diferentes mecanismos de activación de la apoptosis, pero las distintas vías apoptóticas convergen en la activación de una serie de *proteasas* citosólicas, denominadas *caspasas*. El término hace referencia a las propiedades catalíticas de estas enzimas, ya que «c» denota que se trata de *cisteína proteasas*, y «aspasa» que cortan enlaces peptídicos situados tras un residuo de ácido aspártico. Desde el punto de vista estructural, las *caspasas*

forman una familia bien definida que puede dividirse en tres subfamilias, atendiendo a la homología de secuencia: las subfamilias de la *caspasa* 1 (*caspasas* 1, 4, 5, 11 y 12), de la *caspasa* 3 (*caspasas* 3, 6, 7, 8, 9 y 10), y de la *caspasa* 2, que comprende este único miembro. Todas las *caspasas* se sintetizan como proenzimas inactivas, de 30 a 55 kDa de masa molecular. En respuesta a estímulos proapoptóticos, se activan por autoproteólisis o mediante una cascada de activación secuencial, en la que intervienen varios miembros de la familia. El resultado final es una proteína dimérica activa (Fig. 27-8).

Desde un punto de vista funcional, las *caspasas* se clasifican en dos tipos: las iniciadoras y las ejecutoras. Las *caspasas* iniciadoras son las que disparan la cascada de activación proteolítica que conduce a la muerte celular, y las principales son la 2, 8, 9 y 10. Normalmente se activan en respuesta a señales que alcanzan la membrana plasmática de la célula, aunque como veremos más adelante, pueden responder a estímulos del interior de la propia célula. Las *caspasas* ejecutoras, como la 3, 6 y 7 se activan más tarde, como consecuencia de un corte proteolítico específico catalizado por una *caspasa* iniciadora. Las *caspasas* ejecutoras hidrolizan, entonces, proteínas citosólicas y nucleares y provocan la muerte de la célula. Algunos de los sustratos de las *caspasas* ejecutoras son *proteína quinasas* citosólicas implicadas en el control del metabolismo y del ciclo celular, componentes estructurales del núcleo, la *endonucleasa* responsable de la fragmentación internucleosomal de la cromatina, o enzimas como la *poli(ADP-ribosa) polimerasa (PARP)*. La activación de las *caspasas* parece necesaria y suficiente para provocar la apoptosis, de manera que el proceso puede bloquearse mediante inhibidores específicos de estas *proteasas*.

27.6.3 Regulación de la apoptosis

Existen tres tipos de vías que pueden conducir a una activación de las *caspasas* y, por tanto, de la apoptosis. Una de estas vías comienza con la unión de determinados ligandos extracelula-

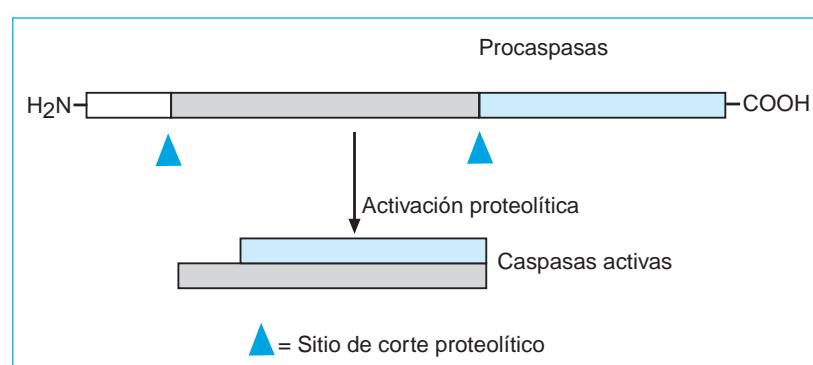


Figura 27-8. Activación proteolítica de las caspasas. Las caspasas se sintetizan como proenzimas inactivos. Su activación depende de dos cortes proteolíticos distintos, uno, verificado cerca del extremo amino-terminal, y el otro, más interno. Como consecuencia de estos dos cortes, se producen tres fragmentos. El fragmento N-terminal, de menor tamaño, se pierde, mientras que los otros dos interactúan entre sí formando un dímero enzimáticamente activo.

res proapoptóticos a receptores de la membrana plasmática de la célula diana, con activación de la *caspasa iniciadora 8*. Un segundo mecanismo no requiere de ligandos externos e implica a las mitocondrias y a la *caspasa iniciadora 9*. Por último, una tercera vía peor caracterizada parece originarse en el retículo endoplásmico y depende de la *caspasa iniciadora 12*.

La vía de los ligandos y receptores de la muerte celular

La apoptosis puede inducirse por la interacción específica de algunos ligandos con receptores de la membrana plasmática, denominados, a veces, *receptores de muerte celular*, en un

proceso que se conoce, a menudo, como *vía extrínseca* por depender de señales extracelulares. Dos de los pares ligando-receptor mejor caracterizados son los constituidos por los ligandos *factor de necrosis tumoral α (TNFα)* y el *ligando de Fas (FasL)* y sus respectivos receptores (*TNFR* y *Fas*). La vía de activación de la apoptosis es muy similar en ambos casos (Fig. 27-9). La unión del ligando al receptor induce la trimerización y activación de éste. El receptor activado recluta la proteína *FADD (Fas Associated Death Domain)*, en un proceso que suele requerir la participación de otras proteínas adaptadoras, como *TRADD*, y que conduce a la unión y activación de la *caspasa iniciadora 8*. La *caspasa 8* determina la

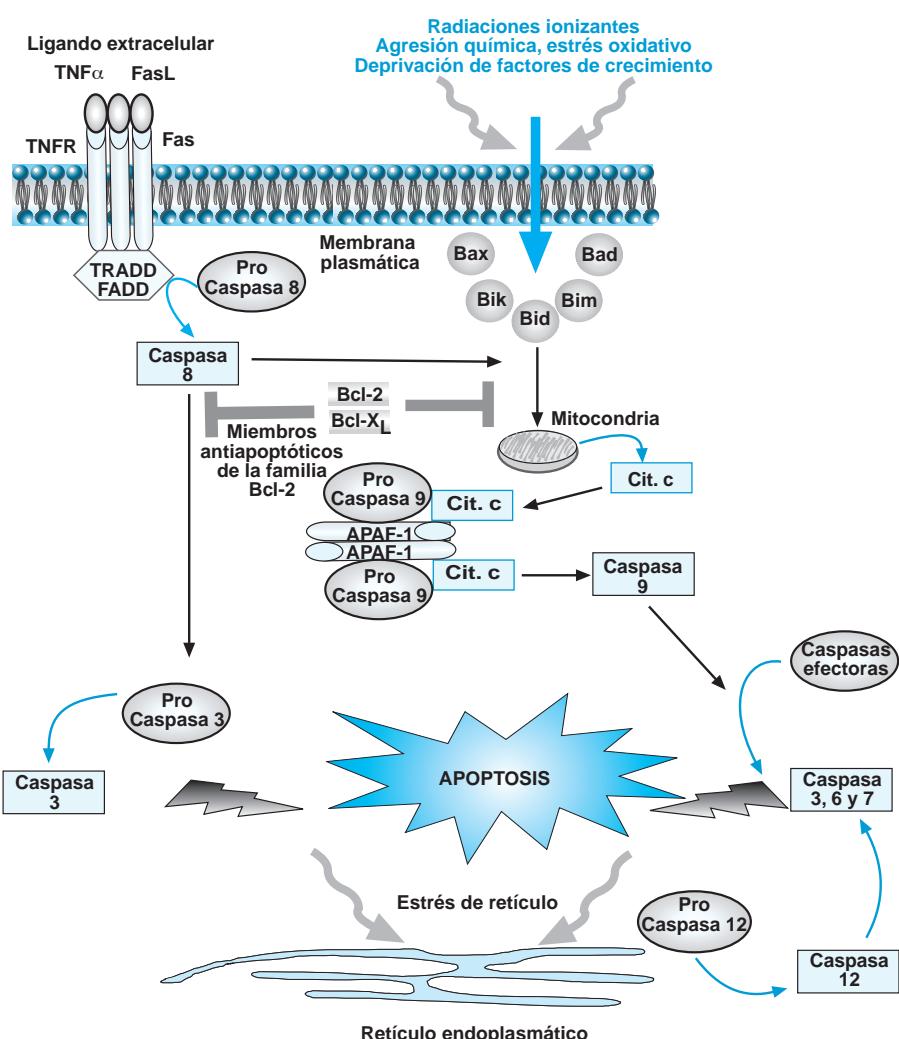


Figura 27-9. Vías de regulación de la apoptosis. La apoptosis puede desencadenarse por tres vías: la unión de ligandos externos a receptores de muerte celular (parte superior izquierda de la figura), la presencia de una agresión externa física o química o la falta de factores de crecimiento o supervivencia (parte superior derecha) y, por último, el denominado estrés de retículo (parte inferior). Estas vías activan caspasas iniciadoras (la 8, 9 o 12, respectivamente) y, seguidamente, caspasas efectoras, que degradan proteínas clave y provocan la muerte celular. Las vías de activación están estrechamente reguladas por efectores intracelulares, tanto positivos como negativos.

activación proteolítica directa de una *caspasa* ejecutora, la *caspasa* 3, y la activación indirecta de otras *caspasas*. En efecto, la *caspasa* 8 activa también una proteína denominada Bid, que en la célula en reposo se localiza preferentemente en el citoplasma. Sin embargo, la *caspasa* 8 cataliza la ruptura proteolítica de Bid, generando un fragmento carboxilo terminal de 15 kDa, que es miristoilado, y se asocia fuertemente a la membrana mitocondrial externa. Tras esta translocación, Bid promueve la liberación del citocromo c desde la mitocondria hasta el citoplasma. Una vez en el citoplasma, el citocromo c forma un complejo multiproteico denominado *apoptosoma*, en el que intervienen al menos otras dos proteínas, Apaf-1 (factor activador de *proteasas* de apoptosis 1) y procaspasa 9. La formación del complejo conduce a la activación de *caspasa* 9 y refuerza el efecto apoptótico de la cascada, ya que, en su forma activa, la *caspasa* iniciadora 9 es capaz de activar a las *caspasas* ejecutoras 3, 6 y 7.

Otras vías de inducción de la apoptosis

La apoptosis puede desencadenarse en ausencia de moléculas de señalización, como FasL o TNF α , en situaciones en las que la célula haya sufrido una agresión química (p. ej., el estrés oxidativo) o física (p. ej., la exposición a radiaciones ionizantes), o bien, haya sido privada de factores de crecimiento o de una adecuada adhesión. Estas situaciones pueden conducir a la activación de Bid, o de otros factores proapoptóticos relacionados, como Bax, Bik, Bad y Bim. Estos factores activados inducen la liberación del citocromo c, que como ya hemos visto determina la activación de la *caspasa* iniciadora 9 y de las *caspasas* ejecutoras 3, 6 y 7. Por tanto, este mecanismo de activación comparte sus etapas finales con la vía extrínseca.

Los factores proapoptóticos Bid, Bax, Bik, Bad y Bim pertenecen todos a una misma familia, la familia de Bcl-2, de la que se han identificado al menos 19 miembros. La familia de Bcl-2 es esencial para la regulación de la apoptosis, ya que, además de los factores proapoptóticos previamente mencionados, algunos de sus miembros inhiben el proceso. Entre las proteínas supresoras de la apoptosis, las principales son el propio Bcl-2, y Bcl-x $_L$ que se localizan en la membrana mitocondrial externa e inhiben la liberación del citocromo c promovida por factores proapoptóticos, como Bid y Bax. Además, algunos miembros supresores de la familia como el propio Bcl-2, podrían también inhibir otras etapas como la activación de *procaspasa* 3. Las interacciones proteína-proteína entre los miembros de la familia Bcl-2 parecen ser un elemento clave de su actividad. Por ejemplo, Bax puede formar homodímeros, o bien, heterodímeros con Bcl-2 o Bcl-x $_L$. Al parecer, la formación de homodímeros Bax-Bax promueve la entrada en apoptosis,

mientras que la formación de heterodímeros con Bcl-2 o Bcl-x $_L$, la inhibe. Cuando Bax se encuentre expresado en mayor medida que los miembros antiapoptóticos de la familia, o bien, cuando la célula exprese otros factores proapoptóticos, como Bad, que desplazan a Bax de los heterodímeros, la formación de homodímeros Bax-Bax y, por tanto, la apoptosis, se ve favorecida. Así, la entrada en apoptosis podría depender de la relación de los miembros de la familia Bcl-2 inductores y supresores expresados por la célula.

Algunos procesos que actúan preferentemente en el retículo endoplásmico, también son capaces de desencadenar la apoptosis. Son ejemplos las alteraciones graves de la homeostasis del calcio producidas por ionóforos, o la acumulación de proteínas incorrectamente procesadas, mal plegadas o glicosiladas defectuosamente (véase el Cap. 26). Esta apoptosis secundaria al estrés del retículo endoplásmico parece asociada a algunas enfermedades neurodegenerativas. La *caspasa* inductora implicada parece ser *caspasa* 12, que es el único miembro de la familia asociado preferentemente al retículo endoplásmico, pero se desconocen los detalles del proceso de activación, y de su relación con la activación de las *caspasas* efectoras.

Debido a su importancia para la homeostasis de los tejidos, la apoptosis está muy estrechamente regulada. Además de los puntos de regulación mencionados, existen otras moléculas capaces de modular el proceso. Por ejemplo, se ha descrito una familia de inhibidores de la apoptosis (denominados IAP), que comprende algunos miembros asociados a enfermedades neurodegenerativas. Los IAP pueden unirse a algunas *caspasas* e inhibirlas. Por ejemplo, bloquean la activación de las *caspasas* efectoras por *caspasa* 9.

La expresión de los genes que controlan la apoptosis está, a su vez, regulada por moléculas de señalización intercelular. Ya hemos visto que algunas de ellas promueven la apoptosis, pero también existen señales antiapoptóticas que parecen jugar un papel esencial en el desarrollo del organismo y la homeostasis de los tejidos, ya que la inmensa mayoría de las células eucarióticas normales requieren una combinación de más de una señal de supervivencia para inhibir la muerte celular. Estas señales de supervivencia pueden ser factores solubles, como el NGF, que promueve la supervivencia de neuronas simpáticas, o componentes de la membrana plasmática o de la matriz extracelular. Es de resaltar que las células cancerosas, además de tener unos requerimientos disminuidos de factores de crecimiento para sostener su proliferación, son también relativamente independientes de la presencia en el entorno de factores de supervivencia. Este comportamiento puede explicarse, al menos, en parte, por una alteración de los mecanismos de regulación normales de apoptosis en las células malignas.

RESUMEN

- El desarrollo de los organismos superiores requiere la proliferación mitótica de una célula original y la diferenciación organizada de las células resultantes, para dar lugar a los distintos órganos y tejidos.
- La proliferación celular se produce mediante un ciclo de cuatro fases. En la fase G₁ la célula integra las señales que controlan la proliferación y, si predominan los estímulos mitógenos, se prepara para la duplicación del material genético, que se verifica en la fase S. Sigue una fase intermedia G₂, y una fase M en la que se produce la mitosis. Las dos células resultantes quedan en fase G₁.
- El paso a través del ciclo celular está regulado por *proteína quinasas* denominadas CDK, que se activan como consecuencia de su unión a proteínas de la familia de las ciclinas.
- La activación del factor de transcripción E2F durante la fase G₁ es imprescindible para la progresión a través del ciclo. En la célula en reposo, E2F se mantiene inactivo por unión a la proteína Rb. La fosforilación de Rb por CDK libera el E2F, que entonces activa la transcripción de genes que promueven la división celular.
- La actividad de las CDK puede inhibirse por proteínas citosólicas, cuyos niveles dependen de estímulos externos.
- Los principales estímulos mitógenos para las células de mamífero consisten en moléculas polipeptídicas llamadas factores de crecimiento, que actúan a través de receptores de membrana con actividad *tirosina quinasa* dependiente de la unión de ligando.
- La activación de los receptores de factores de crecimiento dispara cascadas de señalización complejas que conducen al núcleo, donde se activa la transcripción de genes necesarios para la progresión a través del ciclo.
- Además de los factores de crecimiento clásicos, el estado de proliferación y diferenciación de muchos tipos celulares está regulado paracrína o autocrinamente por las citoquinas, entre otras moléculas de señalización.
- El desarrollo de los organismos superiores es el resultado de un programa genético muy complejo que determina la diferenciación de distintos tipos celulares y la formación correcta de los tejidos y órganos.
- En las primeras etapas del desarrollo actúan los productos de genes maternos que codifican factores de transcripción, distribuidos de forma asimétrica en el óvulo fecundado.
- Como consecuencia de esta distribución asimétrica de los factores de transcripción maternos, los núcleos del embrión comienzan muy pronto a expresar de forma diferencial distintos morfógenos, que, a su vez actúan como factores de transcripción.
- Los genes homeóticos dirigen el desarrollo ulterior de los tejidos y son imprescindibles para la formación de las estructuras y los órganos característicos de cada parte del organismo.
- La determinación del tipo celular y el establecimiento y mantenimiento de sus características diferenciadas dependen de moléculas de señalización, como las hormonas, y del establecimiento de contactos correctos con componentes extracelulares.
- Las moléculas de adhesión que establecen contactos intercelulares o con componentes de la matriz extracelular son capaces de disparar cascadas de señalización que alcanzan el núcleo, y que implican la activación de *quinasas* intracelulares o la regulación de factores de transcripción.
- Al igual que el crecimiento y la diferenciación, la muerte celular por apoptosis es un proceso regulado genéticamente, que contribuye al desarrollo embrionario y a la homeostasis de los tejidos.
- La apoptosis se produce como consecuencia de la activación en cascada de *proteasas* de la familia de las caspasas, que destruyen proteínas clave para la supervivencia celular.
- La entrada en apoptosis de una célula puede depender de la unión de ligandos externos, de la aparición de un daño celular por agentes químicos o físicos externos, o de señales de estrés procedentes del interior de la célula y, en particular, del retículo endoplásmico.

EVALUACIÓN

1. (B). Factores de crecimiento y cascadas de transducción de señales.
 1. Los receptores de factores de crecimiento pueden ser sustratos para las *proteína quinasas A y C*.
 2. La fosforilación del receptor para un factor de crecimiento por la *proteína quinasa A* puede modificar su afinidad por el ligando o su capacidad de respuesta tras la unión de éste.
 3. Los receptores para factores de crecimiento poseen actividad *tirosina quinasa* controlada por el ligando.
 4. La unión de un factor de crecimiento a su receptor lo activa de forma irreversible.

a b c d e
 2. Los genes homeóticos se expresan en el óvulo, pero no en el embrión.
 3. Los genes homeóticos codifican factores de transcripción.
 4. Los genes homeóticos son característicos de *Drosophila* y de organismos pluricelulares inferiores, pero no se encuentran en el ser humano.
- a b c d e
6. (A). Receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGF):
 - a. Es un factor de transcripción nuclear.
 - b. Se autofosforila en respuesta a la unión de EGF.
 - c. Posee una actividad residual *GTPasa* intrínseca.
 - d. Está acoplado a la proteína Gi.
 - e. Posee una estructura tetramérica.
 7. (A). Uno de los siguientes cambios bioquímicos o morfológicos NO es característico de la apoptosis:
 - a. Compactación de la cromatina.
 - b. Activación de *endonucleasas*.
 - c. Activación de la velocidad de síntesis de proteínas.
 - d. Liberación de fragmentos discretos de cromatina, de tamaño múltiplo de los nucleosomas.
 - e. Disminución de la velocidad de respiración celular.
 8. (B). Control bioquímico de la diferenciación celular:
 1. La capacidad de los odontoblastos de fabricar dentina depende de su interacción con una membrana basal.
 2. Las hormonas provocan cambios metabólicos en las células diana pero no alteran su estado de diferenciación o proliferación.
 3. El factor de crecimiento nervioso estimula la formación de dendritas por las neuronas simpáticas.
 4. Las hormonas sólo condicionan el desarrollo celular después del nacimiento.

a b c d e
 9. (B). Senescencia celular:
 1. El término se refiere a la pérdida de capacidad replicativa de las células de los organismos superiores, después de un número determinado de divisiones.
 2. El proceso requiere la liberación de citocromo c desde las mitocondrias hasta el plasma.
 3. Los principales reguladores del proceso son los dos productos derivados del *locus INK4A-ARF*.
 4. El *locus INK4A-ARF* codifica una *quinasa* dependiente de ciclinas, que deja de expresarse en la senescencia celular.

a b c d e
 10. (C). Las mutaciones en los genes que regulan la senescencia celular son frecuentes en el cáncer PORQUE la pérdida de actividad de estos genes favorece la replicación celular indefinida.

a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Adrain C, Martin SJ: The mitochondrial apoptosome: a killer unleashed by the cytochrome seas. *TiBS* 2001; 26: 390-397.
- Aguilera A: La recombinación homóloga del ADN. *Inv y C* 2002; julio: 58-67.
- Bernardi P, Petronilli V, DiLisa F *et al.*: A mitochondrial perspective of cell death. *TiBS* 2001; 26: 112-118.
- Bracken AP, Ciro H, Cocito A, Helin K: E₂F target genes: unraveling the biology. *TiBS* 2004; 29: 409-417.
- Burgering BMT, Kops GJPL: Cell cycle and death control: long live Forkheads. *TiBS* 2002; 27: 352-360.
- Casares F: Los genes determinantes de las antenas. *Inv y C* 2003; mayo: 26-33.
- Chin L, Pomerantz J, DePinho RA: The INK4a/ARF tumor suppressor: one gene-two products-two pathways. *TiBS* 1998; 23: 291-296.
- Davydov DD: Microsomal monooxygenase in apoptosis: another target for cytochrome c signaling? *TiBS* 2001; 26: 155-160.
- Gil J, Esteban M: Mecanismo de acción de los interferones. *Inv y C* 2001; agosto: 44-51.
- Kumar S, Cakouras D: Transcriptional control of the core cell-death machinery. *TiBS* 2004; 29: 193-199.
- Manning G, Plowman GD, Hunter T *et al.*: Evolution of protein kinase signaling from yeast to man. *TiBS* 2002; 27: 514-520.

28.1 INTRODUCCIÓN

Los virus son partículas infecciosas formadas por ácido nucleico y una cubierta protectora de proteínas. Son parásitos celulares incapaces de multiplicarse por sí solos, requiriendo para ello gran parte de la maquinaria biosintética y la energía proporcionada por la célula huésped que infectan.

El virus, cuando se encuentra fuera de la célula (*virión o partícula viral*), presenta una estructura y una organización que dependen del tipo de virus en cuestión. En general, se puede decir que una partícula viral consiste en una o varias moléculas de ADN o ARN (nunca coexisten los dos tipos de ácido nucleico en una partícula viral) y una cubierta más o menos compleja, formada básicamente por proteínas, denominada *cápside*. El número de proteínas diferentes presentes en la cápside aumenta de acuerdo con la complejidad del virus, existiendo un gran número de copias de las mismas que se organizan estructuralmente sobre la molécula o moléculas de ácido nucleico y dan lugar a cubiertas con una geometría regular característica. Ciertos virus, además de las proteínas estructurales, poseen enzimas que van a desempeñar un papel importante en la multiplicación de la partícula viral. En algunos casos, la cápside está rodeada de una *envoltura* que contiene glicoproteínas virales y lípidos de membrana que han sido secuestrados de la propia membrana plasmática de la célula infectada (Fig. 28-1).

Los virus tienen afinidad para infectar determinados tipos de células (*tropismo*). De acuerdo con la naturaleza de la célula huésped, los virus se clasifican en virus bacterianos (*bacteriófagos o fagos*), virus vegetales y virus animales. En determinados casos, los virus producen la muerte de la célula infectada, mientras que en otros, dan lugar a la transformación de dicha célula, siendo causantes de enfermedades potencialmente mortales en los vegetales, los animales y el ser humano (gripe, viruela, resfriado común, polio, rabia, hepatitis, SIDA, etc.).

28.2 ÁCIDOS NUCLEICOS VIRALES

Los virus se pueden clasificar, de acuerdo con el tipo de ácido nucleico que portan, en cuatro grupos: virus ADN

(monocatenarios y bicatenarios) y virus ARN (monocatenarios y bicatenarios) (Tabla 28-1). Los virus *ADN monocatenarios* y *ARN bicatenarios* presentan moléculas de ácidos nucleicos que no aparecen como componentes normales de las células procarióticas ni eucarióticas. Las moléculas de ARN viral son lineales, mientras que las de ADN presentan formas, tanto lineales, como circulares. Existen moléculas pequeñas de ARN circular monocatenario, denominadas *viroídes*, que pueden infectar células vegetales. Estos viroides son patógenos, aunque no parece que codifiquen proteínas y carecen de envoltura.

La mayor parte de los virus vegetales y muchos virus animales son virus ARN, siendo el tamaño de sus genomas relativamente pequeño en comparación con las moléculas de

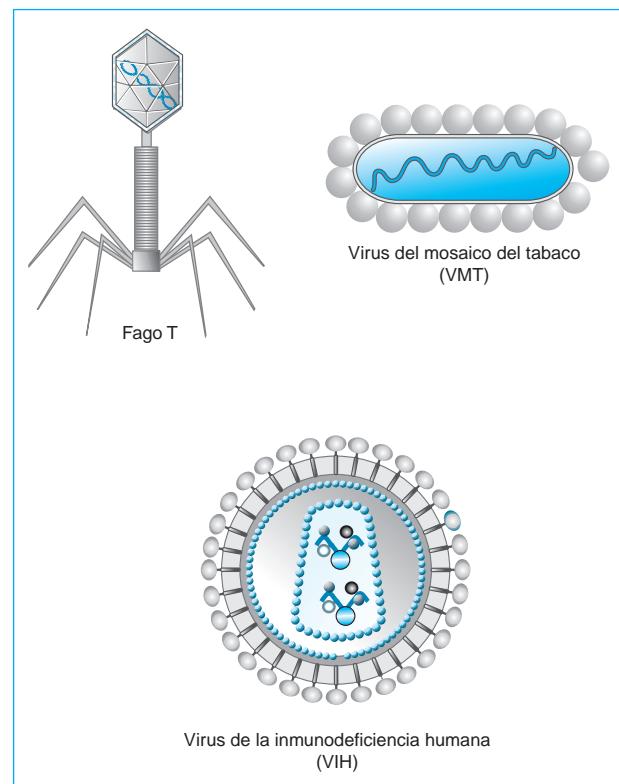


Figura 28-1. Estructuras de algunos virus bacterianos, vegetales y animales.

Tabla 28-1. Clasificación bioquímica de los virus

Virus ADN	Monocatenarios	Fago φX174 Parvovirus Fagos T. Fago λ Virus SV40 Adenovirus. Virus hepatitis B. Virus herpéticos
	Bicatenarios	
Virus ARN	Monocatenarios	Fago Qβ. Fago MS2 Virus del mosaico del tabaco (VMT) Virus de la gripe, polio, rabia, hepatitis C, etc. Retrovirus (retrovirus oncogénicos, VIH, etc.)
	Bicatenarios	Reovirus. Rotavirus

Tabla 28-2. Tamaño de algunos genomas virales

Virus	Tipo de ácido nucleico	Tamaño (pb)	N.º genes
Viroide PSTV	ARN	359	—
Fago MS2	ARN	3569	4
Papova (SV40)	ADN	5226	~6
Fago φX174	ADN	5387	11
Mosaico del tabaco	ARN	6400	4
Gripe	ARN	15 000	~12
Reovirus	ARN	30 000	~22
Fago λ	ADN	48 600	~40
Fago T4	ADN	165 000	~200
Vacuna	ADN	200 000	~300

los virus ADN, que presentan tamaños más variables. En cualquier caso, la información genética que portan, tanto los virus ADN, como los ARN es reducida, por lo que, para su multiplicación, requieren de la maquinaria de síntesis de ácidos nucleicos y proteínas de la célula hospedadora. Algunos virus poseen únicamente dos o tres genes, que codifican las proteínas de la cápside. En otros, el número de genes es más amplio, codificando no sólo proteínas estructurales, sino también enzimas que van a participar en la replicación o expresión de su propio genoma, en colaboración con las enzimas propiamente celulares. En la Tabla 28-2 se presentan algunos datos sobre el tamaño de los genomas de determinados virus. En los virus con genomas de tamaño pequeño se ha observado el fenómeno de solapamiento de genes, que permite que un segmento de la secuencia polinucleotídica pueda formar parte de dos genes diferentes adyacentes,

leyéndose dicha secuencia con diferente pauta de lectura (véase el Cap. 21).

Según la forma o estrategia de la expresión génica y la replicación, los virus se pueden clasificar en seis grupos (clasificación de Baltimore) (Fig. 28-2). Mientras que en los virus *ADN bicatenarios* (\pm ADN) su replicación y expresión es similar a la del ADN celular, los virus *ADN monocatenarios* (+ADN) adoptan la forma bicatenaria durante su multiplicación. En cuanto a los virus ARN, los *bicatenarios* (\pm ARN) necesitan sintetizar moléculas de ARNm (+ARN) para lograr su multiplicación, para lo cual utilizan la cadena –ARN como molde. Entre los virus ARN *monocatenarios*, en los +ARN la cadena de ARN viral puede actuar como ARN mensajero en la célula infectada y dar lugar a la síntesis de una enzima típicamente viral, la ARN polimerasa dependiente de ARN (*replicasa de ARN*), indispensable para su replicación.

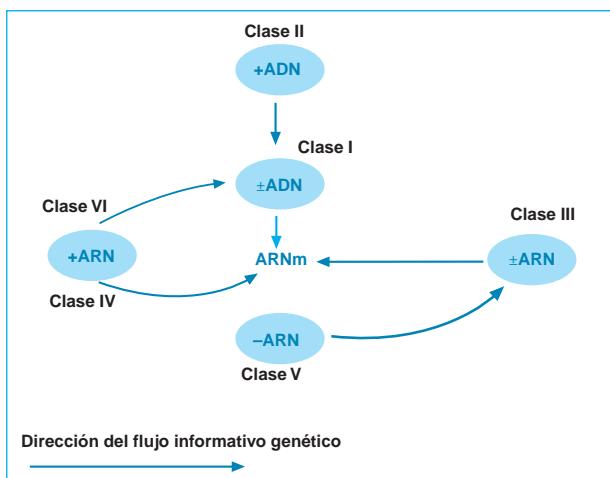


Figura 28-2. Clasificación del virus de Baltimore.

En los virus monocatenarios –ARN, la cadena polinucleotídica no puede actuar como ARNm porque carece, tanto de las señales para ser reconocidas por los ribosomas como de las secuencias codificantes de proteínas, necesitándose la síntesis de su cadena complementaria (+ARN) que sí puede actuar como ARN mensajero y dar lugar a la síntesis de proteínas virales. Estos virus –ARN poseen, pues, un genoma «virtual» por lo que necesitan de la presencia de una enzima viral asociada (replicasa de ARN) incorporada con el ARN, tanto en la partícula viral, como en el interior de la célula

infectada para dar lugar a la síntesis del ARN complementario, que actúa como mensajero. Los retrovirus se consideran como virus ARN monocatenarios que, para su expresión y multiplicación, necesitan primero transcribir su información hasta ADN bicatenario (*transcripción inversa*) con la participación de una enzima viral que está presente en la partícula viral y codificada en su genoma: la ADN polimerasa dependiente de ARN o *transcriptasa inversa* y, a partir de este ADN, generar mediante la ARN polimerasa de la célula hospedadora los ARN mensajeros del retrovirus.

28.3 MULTIPLICACIÓN DE LOS VIRUS: VÍAS LÍTICA Y LISÓGENA

El proceso de multiplicación de los virus depende de una serie de etapas sucesivas que van desde su entrada en la célula hospedadora hasta la liberación de las nuevas partículas virales formadas en el interior de la célula (Fig. 28-3).

El proceso de infección comienza con la interacción de la partícula viral con una célula hospedadora susceptible, produciéndose la adsorción del virión a la superficie de la célula en cuestión, y la posterior penetración del ácido nucleico en el interior de la célula en unos casos o de la partícula viral completa, en otros. El proceso de selección de un tipo concreto de célula hospedadora o tropismo viral (los virus sólo atacan determinados tipos de células) está relacionado con la presencia en la superficie celular de determinadas moléculas

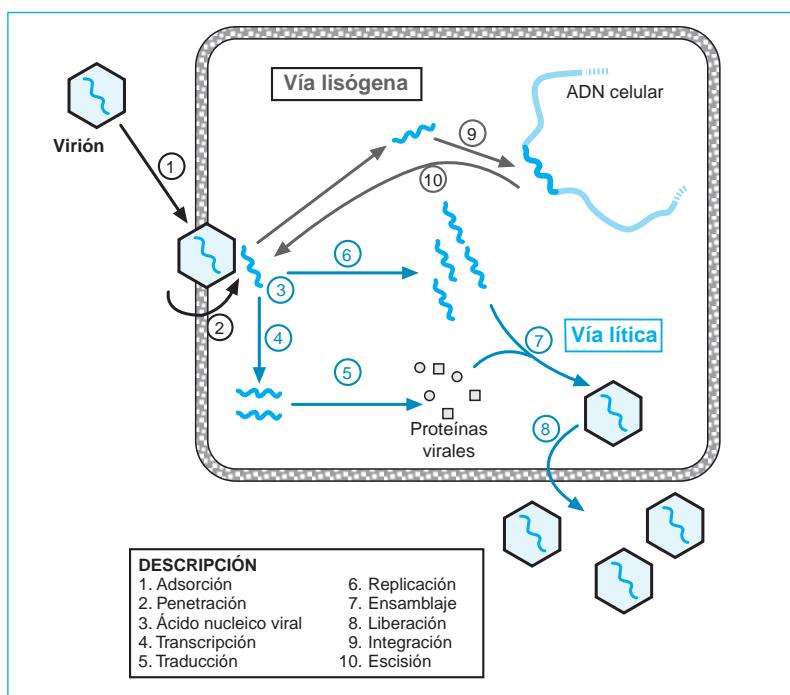


Figura 28-3. Multiplicación de virus en bacterias. Vías lisógena y lítica. Muchos virus, tras su entrada en la célula hospedadora, ponen en marcha el programa de expresión génica que conduce a su multiplicación y, en muchos casos, a la destrucción de la célula (vía lítica). En determinados casos, el material genético se integra en el genoma de la célula hospedadora en forma de provirus, pudiendo permanecer en este estado durante períodos de tiempo prolongados (vía lisógena).

que interaccionan con el virus y sirven de puntos de anclaje del virus sobre la membrana celular. Así, por ejemplo, el virus de la gripe posee en su cubierta externa una proteína (*hemaglutinina*) que interacciona por una zona específica con moléculas de *ácido siálico* presentes en la superficie de las células susceptibles, adhiriéndose a la misma y penetrando en la célula por un mecanismo similar al de endocitosis mediada por receptor. Una vez dentro de la célula, tiene lugar la *descapsidación* de la partícula viral con la liberación en el citoplasma celular de los ácidos nucleicos virales y de las enzimas que éstos puedan llevar asociadas. En algunos virus, en especial en los fagos, sólo el ácido nucleico pasa al interior de la célula.

La mayor parte de los virus, tras la entrada de su material genético en la célula hospedadora, se multiplica mediante un proceso de desarrollo programado en el genoma del propio virus, multiplicación que requiere la previa *expresión y replicación* del genoma vírico. Las proteínas virales, sintetizadas a partir de aminoácidos y energía celulares, pero utilizando ARNm virales como moldes, se ensamblan con las moléculas de ácidos nucleicos víricos sintetizadas en la célula infectada, por medio de procesos de *ensamblaje* parcialmente conocidos (autoensamblaje, ensamblaje mediado por enzimas, etc.), pero que requiere de la presencia de secuencias específicas en las moléculas de ácidos nucleicos virales, lo que determina que sólo éstas y no las de la célula hospedadora sean incluidas en la partícula viral. Las nuevas partículas virales así formadas salen al exterior de la célula, produciéndose en gran número de casos la lisis o muerte celular (*vía lítica*). En determinados tipos de células, algunos virus pueden seguir una vía alternativa, denominada *vía lisógena*, que consiste en la integración del genoma viral en el genoma celular, sin que tenga lugar la multiplicación del virus, que queda así en un estado integrado que se denomina *provirus*. El provirus puede permanecer incluido en el genoma de la célula hospedadora por períodos prolongados e, incluso, replicarse con el ADN celular, transmitiéndose así a la descendencia de las células infectadas. El estado lisógeno es inestable bajo determinadas condiciones, que determinan que el provirus se escinda del genoma, dando lugar a la reactivación de la vía lítica con la consiguiente multiplicación del virus en cuestión. En determinados casos, en el proceso de escisión, el ADN viral puede arrastrar consigo secuencias de ADN de la célula hospedadora que pueden ser transmitidas a otras (*transducción*).

Aunque los virus animales son los que tienen más interés desde el punto de vista médico, la bioquímica de los virus bacterianos y su interacción con sus células hospedadoras ha sido decisiva para el desarrollo de la biología molecular. Así, el estudio de los virus bacterianos y su relación con las células hospedadoras demostró que las bacterias poseen meca-

nismos de defensa que degradan moléculas de ADN ajenas a su propio ADN, lo que impide en gran medida la multiplicación de los bacteriófagos (las bacterias carentes de estos sistemas son, por tanto, más susceptibles al ataque de fagos).

Este sistema defensivo está formado por un conjunto de enzimas denominadas *endonucleasas de restricción*, que reconocen secuencias diana concretas en el ADN (suelen ser secuencias cortas, de 4-6 pares de bases y palindrómicas), para producir la ruptura de la molécula de ADN en ese punto. Las bacterias protegen su propio ADN de la degradación mediante la modificación o metilación de las secuencias diana, lo que se lleva a cabo por medio de *metilasas de ADN* específicas. Un ADN viral modificado por el sistema de metilación de una bacteria será resistente a la restricción, lo que le permitirá multiplicarse con éxito en la célula hospedadora. Estas enzimas de restricción son herramientas básicas en ingeniería genética (véase el Cap. 23). Por otra parte, los estudios con el bacteriófago λ , además de proporcionar gran información sobre los procesos moleculares de regulación de la expresión de los genes de las vías lítica y lisógena, han servido de base para la construcción de vectores de gran interés para la obtención de ADN recombinante (véase el Cap. 23).

28.4 REPLICACIÓN Y EXPRESIÓN DE LOS GENOMAS VIRALES

28.4.1 Replicación y expresión de los virus ADN

La replicación y la expresión de los virus ADN siguen patrones muy parecidos a los descritos para el ADN celular (véase el Cap. 19). Los virus ADN más sencillos utilizan las ADN polimerasas de la célula hospedadora, aunque existen virus que codifican sus propias ADN polimerasas. En el caso de virus animales, los que se replican en el núcleo utilizan la maquinaria del huésped, mientras que los que se replican en el citoplasma codifican las enzimas que permiten su replicación y expresión. La transcripción se lleva a cabo a partir de la ARN polimerasa dependiente de ADN de la célula hospedadora, que da lugar a la formación de moléculas de ARNm viral codificador de proteínas virales. Algunos virus codifican proteínas que participan en la creación de la caperuza de sus ARNm.

Existe un patrón temporal de expresión de las proteínas del virus: algunas proteínas se sintetizan al poco tiempo de la infección (proteínas tempranas), mientras que otras se sintetizan más tarde (proteínas tardías). En algunos bacteriófagos, una proteína temprana suele tener actividad ARN polimerasa dependiente de ADN, reconociendo promotores virales no reconocidos por la polimerasa celular, lo que da lugar a la producción de un nuevo conjunto de moléculas de

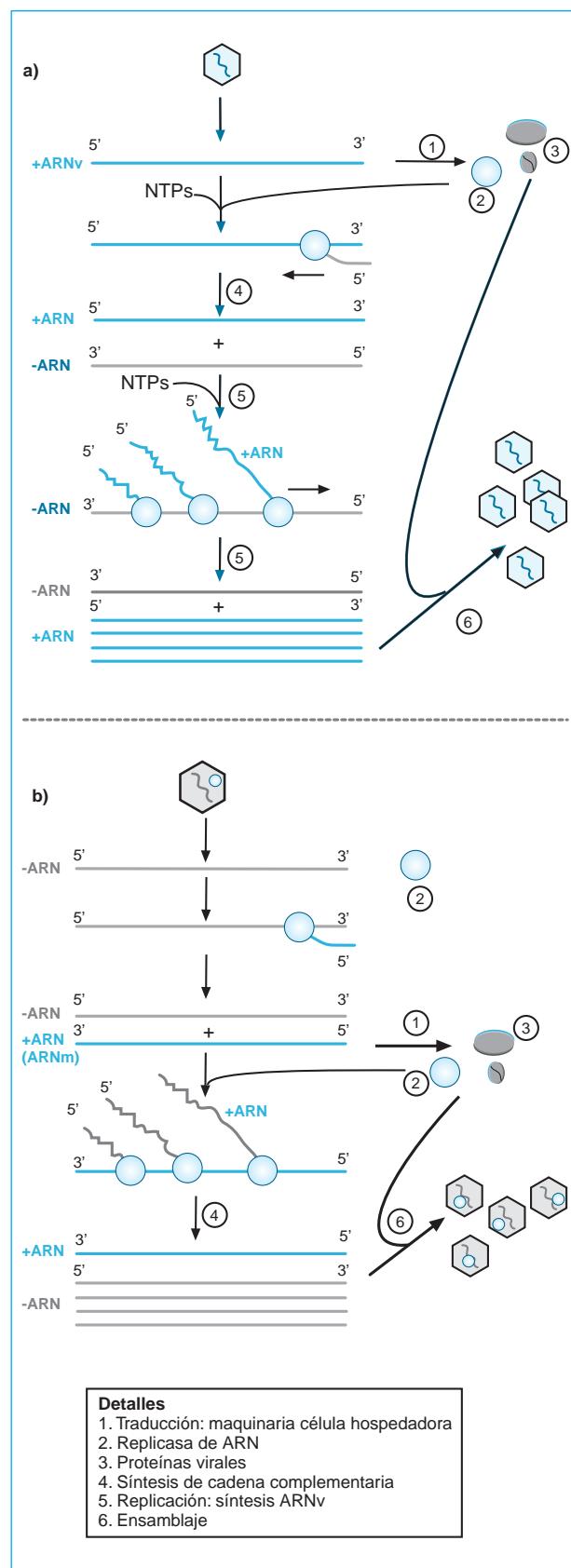
ARNm que dirigen la síntesis de nuevas proteínas virales (proteínas tardías). En otros casos, una proteína temprana modifica la ARN polimerasa de la célula hospedadora, incapacitándola para transcribir los genes de su propio ADN y dirigiéndola hacia la transcripción de los genes virales.

28.4.2 Replicación y expresión de los virus ARN

La replicación de los virus ARN es un proceso atípico de síntesis del ARN, ya que en la célula todos los ARN celulares conocidos se producen por transcripción del ADN (Fig. 28-4). Con la excepción de la replicación de los retrovirus, la síntesis de nuevas moléculas de ARN la llevan a cabo enzimas típicamente virales denominadas *replicasas de ARN* o *ARN polimerasas dependientes de ARN*. Estas enzimas sintetizan polinucleótidos de ARN en el sentido 5' → 3', a partir de nucleósidos trifosfato y de un ARN monocatenario que sirve de molde, dando lugar a la formación de una cadena complementaria de ARN. La utilización de esta segunda cadena como molde dará lugar a la síntesis de una cadena similar a la primera.

En el caso de virus +ARN (p. ej., el virus de la polio), cuya secuencia puede ser traducida directamente por los ribosomas, la replicasa de ARN está codificada en el propio genoma del virus y se produce al poco tiempo de la infección. Los virus -ARN (virus de la estomatitis vesicular, virus de la gripe, etc.), cuya secuencia es complementaria de sus mensajeros, necesitan sintetizar las moléculas de +ARN por medio de una *replicasa de ARN*, que está asociada a la cadena -ARN en el virión y que penetra con ella en el interior de la célula. Las cadenas de ARNm sintetizadas sirven para la obtención de las proteínas virales y también, para la producción, por medio de la replicasa, de las cadenas -ARN del genoma de la descendencia.

Figura 28-4. Replicación y expresión de virus ARN. a) Los virus +ARN pueden actuar como ARNm, dando lugar antes de su replicación a la síntesis de proteínas virales, entre las que se encuentra la replicasa de ARN, que sirve para sintetizar moléculas de ARN complementario (-ARN), que actúan de molde para la obtención de nuevas moléculas del genoma viral (+ARN), que pueden ser traducidas para, finalmente, ser ensambladas con proteínas virales para formar otras nuevas. b) Los virus -ARN no pueden actuar como ARNm, por lo que, necesariamente, para producir una infección efectiva, su partícula viral debe incluir, junto al ARN, la replicasa de ARN. Tras la penetración, esta enzima, utilizando el -ARN como molde, da lugar a la síntesis de proteínas virales (incluida la replicasa de ARN), y generará, a partir de las cadenas de +ARN, los genomas de tipo -ARN, que se empaquetarán junto a la replicasa de ARN para formar nuevos viriones con capacidad infectiva.



Los virus que poseen ARN bicatenario (\pm ARN), como los reovirus, poseen también la ARN replicasa en el virión, la cual, una vez en el interior de la célula, comienza a sintetizar, de una forma asimétrica y conservativa, cadenas (+) que actuarán como ARNm para dar lugar a la formación de proteínas, entre las que se encuentra la *replicasa de ARN*, que se encargará de sintetizar cadenas (-) a partir de cadenas (+), asociándose ambas para formar ARN bicatenario.

Las *replicasas de ARN* son enzimas poco conocidas, que pueden sintetizar ARN viral, pero que no pueden utilizar ARN celulares como molde. Estas enzimas reconocen las secuencias del extremo 3' de las cadenas molde, pero necesitan el concurso de proteínas de la célula hospedadora para su perfecto funcionamiento.

Determinados virus ARN que infectan células de mamíferos poseen características específicas que les permiten utilizar la maquinaria eucariótica para su expresión, a pesar de que los ARNm virales se diferencian en ciertas propiedades de los mensajeros de los eucariotas: así, mientras que las moléculas de ARNm de los eucariotas son monocistrónicas, dando lugar a una traducción a una única cadena polipeptídica, los virus +ARN, como el poliovirus, poseen una única y larga molécula de ARN de, aproximadamente, 7000 nucleótidos que codifica varias proteínas. En realidad, el ARN se lee de forma continua, dando lugar a un polipéptido gigante o *poliproteína* que se fragmenta posteriormente para formar diferentes proteínas virales.

En otros casos, para sortear las limitaciones impuestas por la maquinaria biosintética de la célula hospedadora, los virus utilizan otras estrategias, como las observadas en determinados virus -ARN, en los que los ARNm que se sintetizan a partir de la hebra (-) son de menor tamaño que ésta, llevando cada ARNm la información para la síntesis de una proteína viral determinada. Es el caso del virus de la estomatitis vesicular, donde se producen cinco ARNm monocistrónicos diferentes y una larga cadena de +ARN, que sirve de molde para la replicación del virus. En otros casos, el genoma viral está formado por varias moléculas de -ARN que se replican y expresan independientemente, aunque se agrupen de manera coordinada para formar las partículas virales, como ocurre con el virus de la gripe, formado por ocho moléculas de ARN monocatenario diferentes, o con el reovirus, cuyo genoma está formado por diez moléculas de ARN bicatenario. En el caso de los virus -ARN la formación de caperuzas en sus ARNm tiene lugar mediante proteínas virales que transfieren el extremo 5' del ARNm de eucariotas hasta el ARNm viral. En otros casos, se facilita la eliminación de la caperuza de los ARNm celulares, con lo que se favorece la traducción de los ARNm virales, que en determinados casos poseen IRES (véase el Cap. 21).

28.5 VIRUS TUMORALES. RETROVIRUS

Algunos tipos de virus pueden producir tumores cancerosos en determinados animales. Entre estos *virus oncogénicos* se encuentran diversos tipos de virus ADN, así como gran número de virus ARN, conocidos como retrovirus.

Los virus oncogénicos de ADN, como el virus 40 de simios (SV40) o el virus del polioma, infectan ciertas células susceptibles y pueden dar lugar en unos casos (huéspedes permisivos) a la multiplicación del virus y a la lisis celular, mientras que en otros (huéspedes no permisivos), la multiplicación del virus está bloqueada, produciéndose en alguna de estas células infectadas la transformación de la célula normal en cancerosa, mediante la integración del genoma del virus en el ADN de la célula huésped y la expresión de determinadas proteínas virales. Se conoce que determinadas proteínas virales interfieren con las proteínas reguladoras del ciclo celular (véase el Cap. 27) favoreciendo la proliferación descontrolada de las mismas. Entre las proteínas diana de estas proteínas virales se encuentran las proteínas PP análogas a la proteína Rb (proteína retinoblastoma), secuestradoras de los factores de transcripción de la familia E2F, o las que interaccionan con el p53.

Los *retrovirus* son virus cuyo genoma está formado por ARN monocatenario y que para multiplicarse necesitan la integración de su genoma en forma de ADN, en el genoma de la célula hospedadora. Ello se lleva a cabo por medio de una enzima denominada *transcriptasa inversa* (ADN polimerasa dependiente de ARN), presente en el núcleo del virión, que es capaz de sintetizar en el interior de la célula una cadena de ADN, teniendo como molde el ARN monocatenario viral. La enzima es también capaz de degradar la cadena de ARN del híbrido ARN/ADN (*actividad ARNasa* de la transcriptasa inversa) y sintetizar, a partir de la cadena de ADN, la cadena complementaria, dando lugar a la formación de ADN bicatenario, que porta la información genética presente en el retrovirus (Fig. 28-5). Esta molécula se puede integrar en el ADN de la célula hospedadora por medio de otra proteína viral, una *integrasa*, replicándose junto con el genoma de la célula, y produciéndose una transmisión vertical, por lo que el genoma viral estará presente en las células descendientes de la célula infectada. Si el retrovirus posee un *oncogén*, la expresión del mismo puede dar lugar a la transformación cancerosa de la célula (Tabla 28-3). Los retrovirus que no poseen oncogenes (retrovirus no transformantes) pueden multiplicarse mediante la expresión global del genoma viral integrado, produciendo en algunos casos la muerte de la célula hospedadora.

La replicación y la expresión de los retrovirus presentan unas características peculiares. Su genoma de ARN está formado por unos pocos genes y por secuencias repetidas en sus

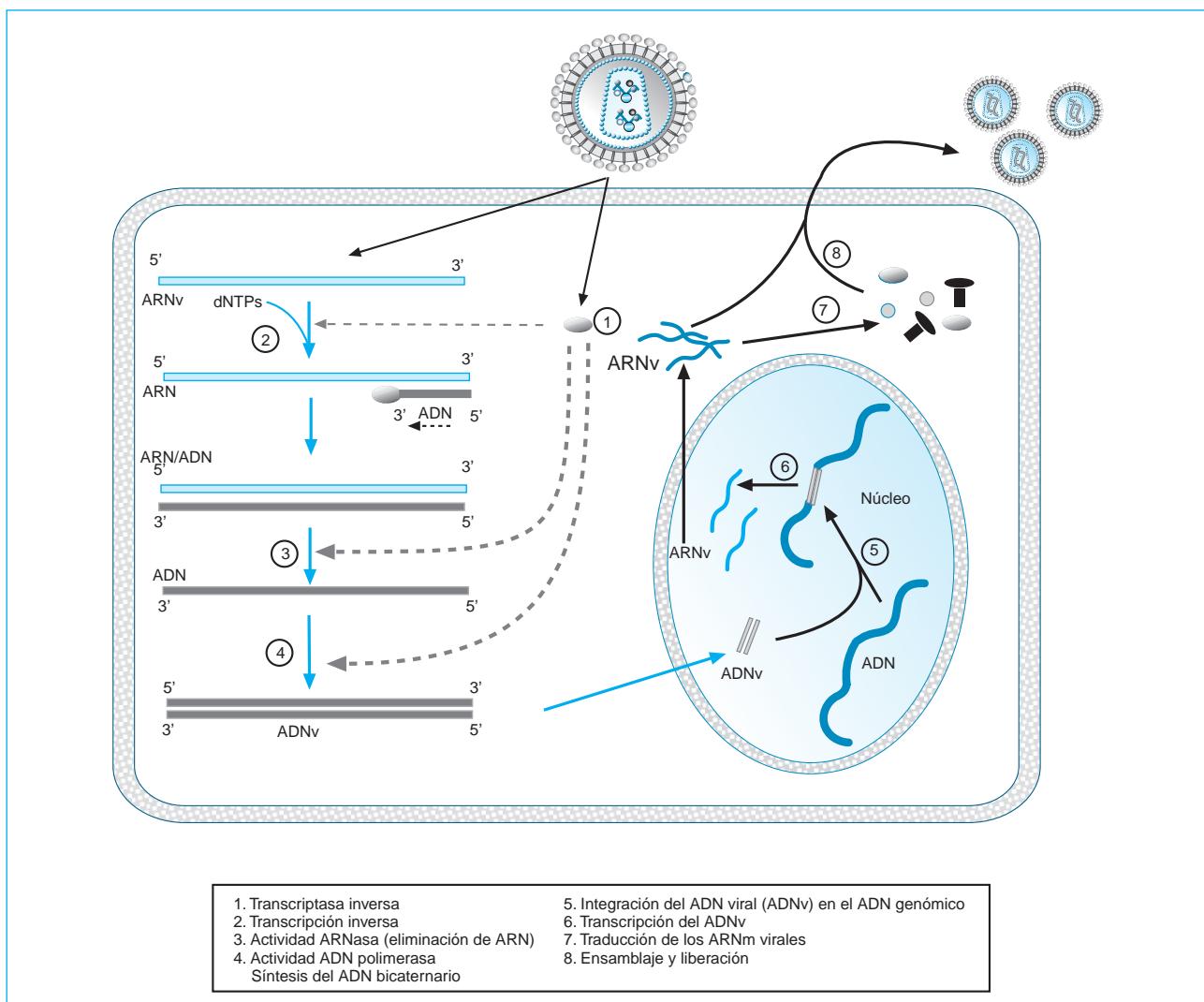


Figura 28-5. Multiplicación de retrovirus. Tras su entrada a la célula, el genoma de ARN no puede actuar directamente como ARNm, siendo copiado por la transcriptasa inversa, introducida por la partícula viral, hasta ADN que, por medio de la integrasa, otra enzima aportada por el virión, se integra en el ADN nuclear de la célula infectada. La transcripción del provirus da lugar a moléculas de ARNm que sirven para la síntesis de proteínas virales, como la transcriptasa inversa, la integrasa y las proteasas. La generación de transcriptos de longitud igual al ARN viral propicia la formación de nuevas partículas virales que son liberadas produciendo en muchos casos la muerte de la célula infectada.

extremos (R) y secuencias únicas en ambos extremos (U5 y U3) (Fig. 28-6). Cuando se sintetiza la cadena de ADN por medio de la *transcriptasa inversa*, se utiliza una molécula de ARNt que se aparea con una zona del ARN viral (ARNv), actuando de cebador y, mediante procesos de síntesis parcial de ADN y degradación parcial de ARN, se genera una cadena de ADN bicatenario que lleva las secuencias complementarias de las presentes en el ARNv, pero que ha incorporado en ambos extremos secuencias adicionales U3 y U5, por lo que dicha molécula posee *secuencias terminales largas repetidas* (LTR) que desempeñan un papel importante en la integración y expresión de dicho ADN.

Los retrovirus poseen tres genes (*gag*, *pol*, *env*) o secuencias que se transcriben para dar ARN con caperuza en el extremo 5' y cola de poli(A) en el 3', y que pueden sufrir procesamientos alternativos para formar diferentes mensajeros. La traducción de algunos de éstos da lugar a poliproteínas, que son cortadas por proteasas para formar una serie de proteínas virales, entre las que se encuentran enzimas (transcriptasa inversa, integrasa, proteasas, etc.) y proteínas estructurales que forman la partícula viral.

Tabla 28-3. Oncogenes de algunos retrovirus

<i>Retrovirus</i>	<i>Oncogén</i>
Sarcoma de Rous (sarcoma aviar)	src
Sarcoma de simios	sis
Sarcoma felino	fms
Sarcoma murino de Harvey	H-ras
Sarcoma murino de Kirsten	K-ras
Eritroblastosis aviar	erb B
Mieloblastosis aviar	myb
Mielocitomatosis aviar	myc
Leucemia murina de Abelson	abl

turales de la nucleocápside y de la cápside. Los retrovirus transformantes poseen oncogenes que, al expresarse, producen oncoproteínas (*tirosina quinasas*, factores de crecimiento, proteínas G, etc., véase el Cap. 29) que pueden dar lugar a la transformación celular. La formación de partículas retrovirales requiere del empaquetamiento del ARN en un núcleo proteico con las enzimas correspondientes, la formación de la cubierta, y la salida o liberación por un proceso parecido a la exocitosis, en el que incorporan a la partícula viral componentes de la membrana celular.

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH-1) es un retrovirus que produce la destrucción de los linfocitos T, originando el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). La partícula viral del VIH-1 está formada por dos

moléculas idénticas de ARN unidas a proteínas (entre ellas, la transcriptasa inversa), una cubierta proteica y una envoltura lipídica en la que se encuentran ancladas glicoproteínas virales (gp41, gp120) (Fig. 28-7). Tras unirse a los receptores CD4 de los linfocitos T, la envoltura lipídica se funde con la membrana celular, produciéndose la entrada del núcleo central de la partícula viral en la célula.

En el interior de la célula infectada, la transcriptasa inversa da lugar a la formación del ADN bicatenario que, por medio de una integrasa, se inserta en el ADN nuclear en forma de provirus. Las secuencias LTR generadas poseen acrecentadores y, aparte de los genes *gag*, *pol* y *env*, este virus posee otros genes que ejercen funciones reguladoras complicadas (*tat*, *rev*, *nef*). En la primera fase de la expresión del virus se produce ARN, que se procesa en el núcleo, exportándose ARNm viral, que da lugar a los productos Tat, Rev y Nef. Éstos estimulan la transcripción del genoma viral y modulan el procesamiento de los transcriptos, con lo cual aparecen en el citoplasma ARNm de mayor longitud (que codifican poliproteínas precursoras de las enzimas y proteínas estructurales virales) y moléculas de ARN del tamaño del genoma viral, que interaccionan con las polimerasas y proteínas gag para formar la partícula central, y que en el proceso de salida de la célula hospedadora incorporan la cubierta lipídica y las glicoproteínas codificadas por el gen *env*, que han sido sintetizadas en el retículo endoplasmático y el aparato de Golgi de la célula hospedadora, causando la lisis de los linfocitos en los que se han multiplicado (Fig. 28-8).

La destrucción de los linfocitos T produce una grave alteración del sistema inmunitario, lo que facilita el contagio por una gran variedad de microorganismos (*infecciones oportunistas*), que pueden producir la muerte del individuo inmunodeprimido. Recientemente, se ha descubierto que en determinadas células se expresa una proteína celular (APOBEC3G), que interfiere en la replicación del retrovirus, provocando desaminaciones de C a U en la cadena de ADN del híbrido ARN/ADN que conducen a su degradación. Sin embargo, la proteína viral Vif bloquea el efecto de la proteína celular, por lo que el éxito de la infección puede estar determinado por la proporción entre estas dos proteínas.

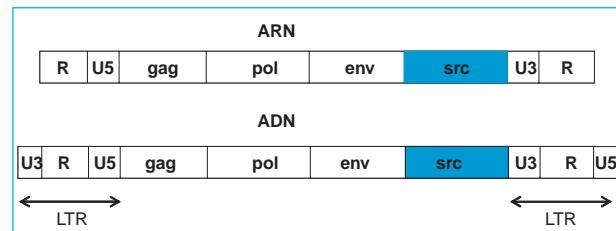


Figura 28-6. Organización génica del retrovirus del sarcoma de Rous. La mayoría de los retrovirus tiene una organización génica muy parecida: terminaciones repetidas largas (LTR) en ambos extremos y tres genes comunes que codifican para las poliproteínas gag, pol y env, que tras su procesamiento dan lugar a las diferentes proteínas virales. Los retrovirus oncogénicos portan un gen adicional, un oncogén viral que, en este caso, es el oncogén src, responsable de la transformación tumoral que producen estos virus en sus huéspedes específicos.

28.6 AGENTES ANTIVIRALES

Los animales poseen sistemas de defensa frente a las infecciones virales. El sistema inmunitario participa en la destrucción de las células que han sido infectadas por los virus, por lo que la producción de vacunas a partir de antígenos virales ha servido para erradicar determinadas enfermedades virales, aunque no siempre es posible preparar una vacuna

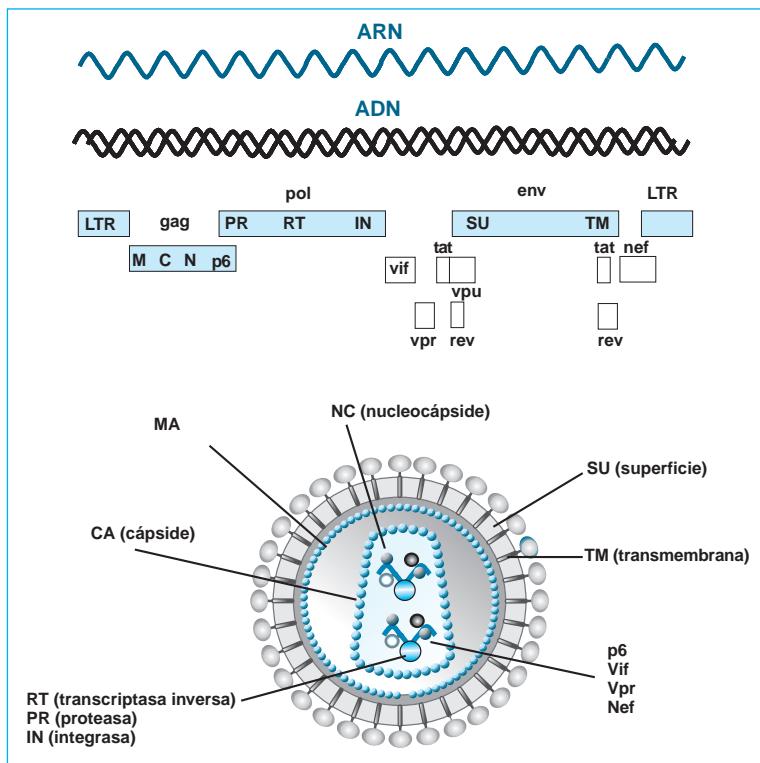


Figura 28-7. Organización del genoma del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y de su virión. En la parte superior, se muestra el genoma formado por una molécula de ARN monocatenario que da lugar al ADNc, en el que existen distintos genes: aparte de los comunes a la mayoría de los retrovirus (en azul: LTR, gag, pol, env), el VIH posee otros genes (en blanco: tat, rev, nef, vif, vpr, vpu), algunos de ellos discontinuos, que codifican para proteínas reguladoras. En la parte inferior, se ilustra un esquema de la partícula viral en la que se aprecia un núcleo formado por dos moléculas idénticas de ARN monocatenario, una serie de proteínas y enzimas asociadas formando la nucleocápside y la cápside, y una envoltura con proteínas virales como gp120 o gp41 y lípidos, y algunas proteínas de tipo HLA captadas de la membrana de las células infectadas.

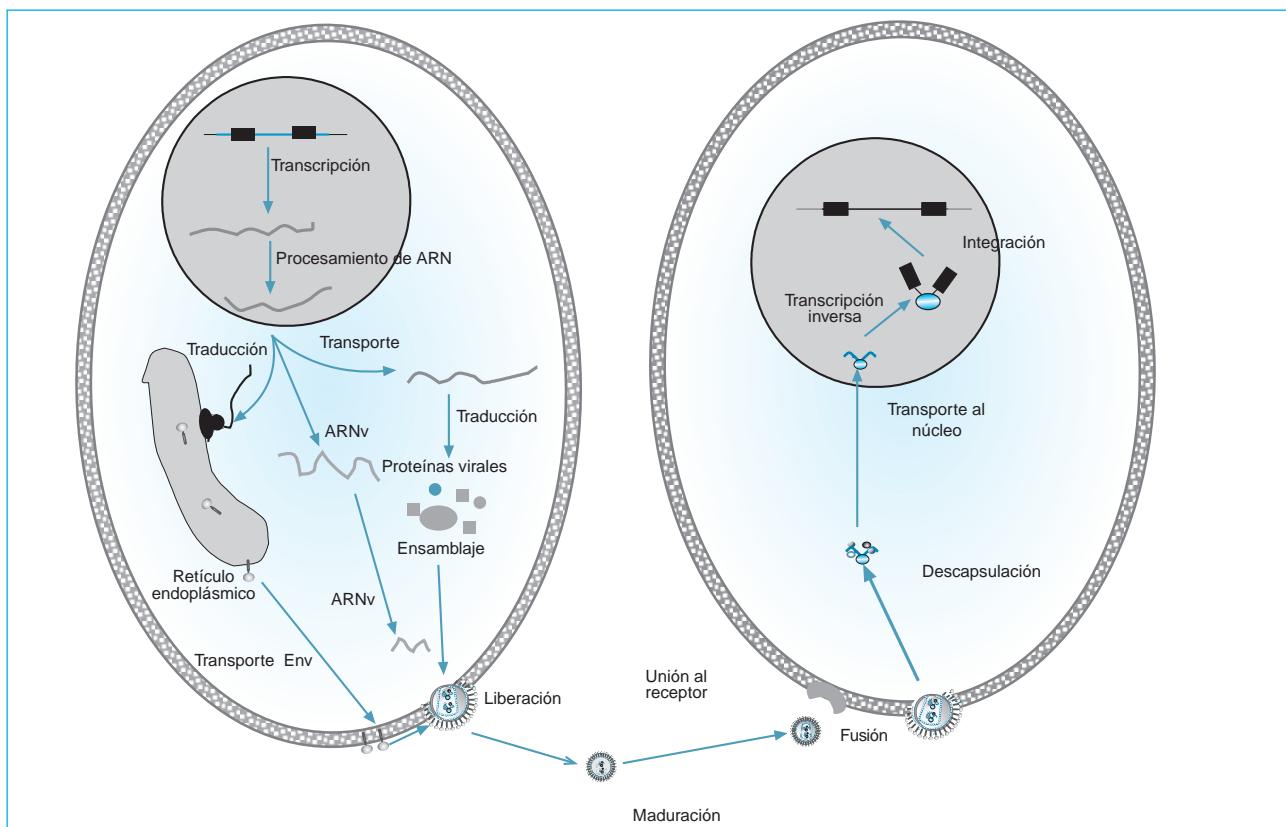
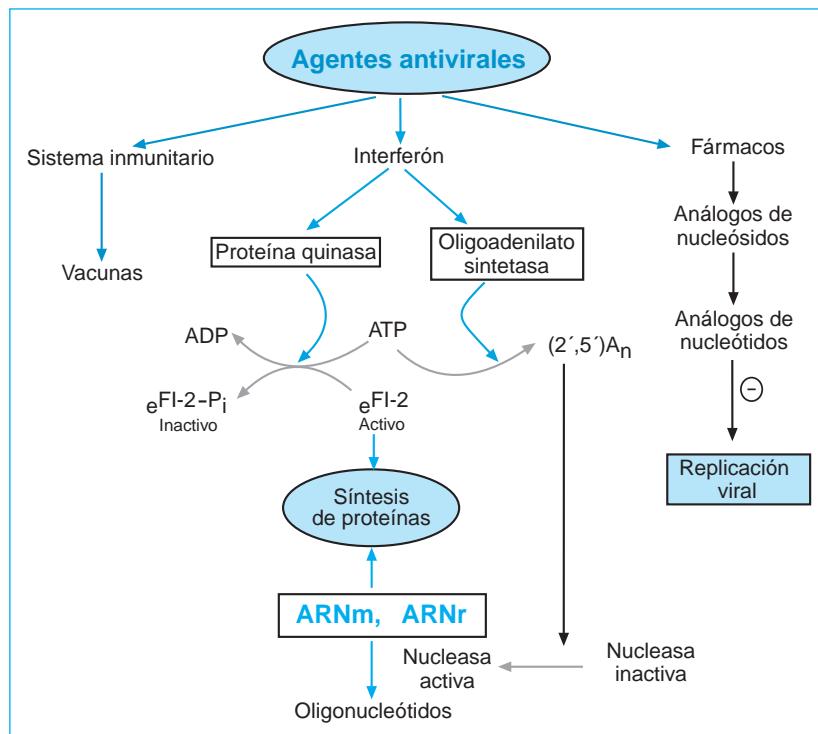


Figura 28-8. Esquema del ciclo de multiplicación del virus VIH. A la izquierda expresión y multiplicación de un retrovirus integrado en la célula hospedadora; a la derecha, infección, transcripción inversa e integración del genoma viral en el núcleo celular.

Figura 28-9. Agentes antivirales. Izquierda: el sistema inmunitario puede ser estimulado por medio de vacunas para la defensa antiviral. Derecha: determinadas infecciones virales se tratan mediante el uso de fármacos que inhiben la replicación del genoma viral. Centro: la formación de interferón constituye un importante mecanismo defensivo. Estimula en la célula donde existen ARN bicatenarios la actividad de varias enzimas: una proteína quinasa que inactiva un factor de iniciación, el eIF-2, con lo que disminuye la síntesis proteica necesaria para la multiplicación del virus, y una oligoadenilato sintetasa, que genera nucleótidos atípicos adenílicos, que activan una nucleasa específica, que degrada ARNm y ARNr, con la consiguiente reducción de la síntesis proteica.



efectiva frente a un determinado tipo de virus. En este sentido, hay que mencionar que ciertos virus, como el de la gripe, presentan una alta tasa de mutación lo que hace necesaria la renovación de las vacunas. Una de las causas de mayor tasa de mutaciones es la falta de actividad correctora de la *replicasa del ARN*.

Las células animales poseen otros mecanismos de defensa frente a los virus, entre los que se cuenta la producción de *interferones*, un conjunto de proteínas que inducen un estado antiviral al actuar sobre determinadas células. Los interferones son sintetizados y secretados por las células de animales infectadas por virus, y actúan uniéndose a la membrana plasmática de las células no infectadas, que adquieren resistencia frente a una gran variedad de virus. El estado antiviral viene mediado por un debilitamiento del sistema de síntesis de las proteínas, a través de la inducción de dos enzimas que se activan en presencia de *ARN bicatenario* (especie presente en las células infectadas por diferentes tipos de virus ARN). Una de las enzimas es una *quinasa* que produce la inactivación de un factor proteico de iniciación, mientras que otra enzima sintetiza, a partir de ATP, *oligoadenilatos* atípicos (cadenas cortas de ácido poliadenílico con enlaces fosfodiéster 2'→5'), los cuales, a su vez, activan *endonucleasas* que degradan moléculas de ARNm y ARNr. La conjunción, por tanto, de interferón y virus, actuando sobre una célula, favorece el estado antiviral, debilitando el sistema de síntesis de proteínas de la célula infectada (Fig. 28-9).

Otra alternativa en la lucha contra los virus la proporciona la *quimioterapia antiviral*. Una sustancia química antiviral ideal sería aquella que inhibiera las enzimas o etapas clave de la multiplicación viral, sin afectar al funcionamiento normal de la célula infectada. Las enzimas diana más adecuadas para estos fármacos serían enzimas típicamente virales, que sólo existieran en células infectadas por los virus (*replicasa de ARN*, *transcriptasa inversa*, etc.), o enzimas virales que presentaran una mayor sensibilidad al inhibidor en cuestión que las enzimas similares de la célula hospedadora (caso de inhibidores de ADN polimerasas).

Así, la 3'-azido-2'-3'-didesoxitimidina o AZT (*azidotimidina* o *zidovudina*) utilizada contra el VIH, es transformada por enzimas celulares en el nucleótido correspondiente (AZTTP), que inhibe, por competencia con dTTP, la síntesis del ADN viral. En la terapia anti-SIDA también se emplean otros fármacos como el *efavirenz* (un inhibidor no nucleotídico de la transcriptasa inversa del virus) o el *indinavir* (inhibidor de la proteasa, que participa en la formación de proteínas virales). El tratamiento combinado reduce la posibilidad de expansión de un virus mutante resistente a uno de los tres fármacos. En el caso de virus herpéticos humanos, la *timidina quinasa viral* transforma mucho más eficazmente que la *timidina quinasa humana* determinados análogos de nucleósidos (*aciclovir*, *araC*, etc.) hasta nucleótidos, los cuales pueden actuar como potentes inhibidores de la *ADN polimerasa viral*, disminuyendo así la replicación de este tipo de virus.

Las propiedades de los virus también pueden aprovecharse por la Medicina para intentar luchar contra las enfermedades. Así, en el Recuadro 28-1 se hace una aproximación

al uso de formas de virus para aplicaciones de terapia génica y en el Recuadro 28-2 se expone una breve revisión sobre la utilización de los virus en las terapias antitumorales.

Recuadro 28-1. MODIFICACIÓN DE VIRUS PARA SU USO EN TERAPIA GÉNICA

La capacidad infectiva de determinados virus animales se puede aprovechar para utilizarlos como vectores, con el fin de introducir genes de interés terapéutico en células genéticamente defectuosas, en experimentos de terapia génica.

Los *retrovirus* y los *adenovirus* son los que más se utilizan en este tipo de experimentos. Sin embargo, la aplicación de estos virus requiere una serie de manipulaciones, con el fin de eliminar los aspectos negativos de los mismos y de potenciar o crear acciones beneficiosas, haciéndolos más eficaces y seguros. En relación con los retrovirus, se han obtenido células auxiliares transfectadas con genomas retrovirales (denominadas células productoras de vector), que poseen los genes *gag*, *pol* y *env* y que van a permitir la síntesis de las proteínas necesarias para la formación de las partículas infecciosas; sin embargo, tales células son incapaces de incorporar los transcriptos virales, ya que del genoma viral introducido se ha eliminado la secuencia *psi*, que es crítica para la encapsidación. Por otra parte, estas células son transfectadas también con una construcción génica que posea el gen terapéutico a estudiar, unido a los promotores retrovirales (LTR) y a la secuencia viral de encapsidación. Con ello, los transcriptos de este elemento génico se ensamblarán con las proteínas retrovirales para formar partículas infecciosas que poseerán el gen de interés incorporado, y que se utilizarán para infectar las células en las que se quiere corregir el defecto genético. La construcción retroviral que incorpora el gen de interés suele llevar asociado un gen marcador (p. ej., que confiere resis-

tencia a un antibiótico) y que permite seleccionar las células transducidas por las partículas virales (Fig. 28-10). Otra manipulación interesante de los retrovirus consiste en modificar las proteínas de la cubierta relacionadas con el

tropismo viral, con lo que sería factible que un retrovirus de ratón infectara células humanas. Esto podría conseguirse mediante la sustitución del gen *env* murino por genes *env* de virus más afines a las células humanas.

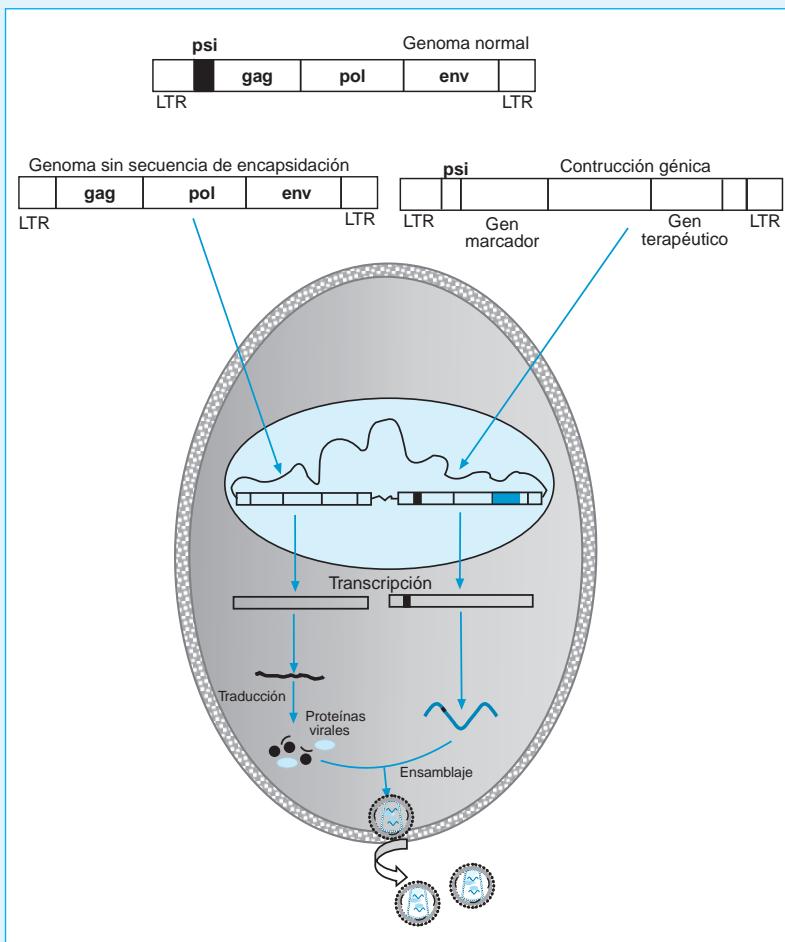


Figura 28-10. Modificación de retrovirus para su uso en terapia génica. La transfección de células con genomas de retrovirus modificados, en los que permanecen los genes que permiten su replicación, pero del que se han eliminado las secuencias *psi* necesarias para su empaquetamiento, permite obtener células empaquetadoras que, si son transfectadas con una construcción génica que tiene el gen terapéutico y las secuencias *psi* de encapsidación, permitirá obtener partículas virales que podrán introducir e integrar el gen terapéutico en las células apropiadas.

Recuadro 28-2.**UTILIZACIÓN DE VIRUS EN LA TERAPIA ANTITUMORAL**

Una de las características de los virus es su capacidad para unirse e infectar un tipo determinado de células. Esta selectividad parece residir fundamentalmente en la interacción específica entre proteínas de la partícula viral y determinados receptores de la célula atacada. Así, ciertos virus humanos atacan predominantemente a células hepáticas, mientras que otros se introducen de manera preferente en las neuronas, provocando en uno y otro caso la destrucción específica de las células infectadas, como consecuencia de la multiplicación viral, sin alterar en absoluto otras células del organismo.

Este principio podría ser de gran utilidad si se generaran virus que atacasen de manera específica células tumorales, y que consiguiesen la eliminación de dichas células alteradas. Aunque en el siglo pasado se tuvieron evidencias de que determinadas infecciones virales propiciaban la regresión de determinados tipos de tumores, no fue hasta finales del siglo XX cuando el concepto de viroterapia antitumoral empezó a con-

siderarse como un abordaje experimental muy prometedor, ya que se constató que el efecto antitumoral no era el mero resultado de la potenciación del sistema inmunológico.

Mediante la *viroterapia antitumoral* se pretende dirigir virus poco peligrosos, como los adenovirus responsables del resfriado común, hacia células tumorales, mediante el uso de diferentes modificaciones genéticas del virus. Existen al menos dos aproximaciones experimentales para conseguir este fin. En el abordaje *traducional* se trata de alterar los genes responsables del reconocimiento de sus células diana, de tal manera que originen proteínas en el virus que reconozcan determinados antígenos tumorales (que se expresan exclusivamente en la superficie celular de las células tumorales), lo que posibilitaría la fijación e introducción específica del virus en las células tumorales, donde su multiplicación podría causar la destrucción, mediante lisis de las mismas. En el abordaje *transcripcional* se intenta asociar los genes virales a promotores que sean muy potentes en células tumorales y no en células sanas, lo que propiciaría la expresión de las

proteínas virales y la multiplicación del virus sólo en las células tumorales, donde el promotor es funcional. Así, por ejemplo, la incorporación de promotores de las enzimas que participan en la síntesis de la melanina, expresadas fundamentalmente en melanocitos, favorecería la multiplicación de los virus en las células de los melanocitos malignos que constituyen el melanoma, un tumor de la piel muy agresivo, y su consiguiente destrucción, ya que en estas células se encuentran los factores de transcripción que activan este promotor, no así en otros tipos de células normales.

También se puede intentar dotar a estos virus terapéuticos con genes que permitan aumentar la sensibilidad de las células tumorales infectadas a la quimioterapia. Aunque estas técnicas necesitan ser perfeccionadas para evitar reacciones indeseables (como la despigmentación del tejido normal, en el ejemplo anteriormente comentado), en la actualidad se vienen realizando diferentes ensayos clínicos con adenovirus y otros virus humanos, esperándose que la viroterapia antitumoral pueda ser una realidad terapeútica para la Medicina del futuro próximo.

RESUMEN

- Los virus son partículas infecciosas formadas por ácido nucleico y proteínas, que se multiplican utilizando la maquinaria biosintética, energía, nucleótidos y aminoácidos de la célula infectada.
- La partícula vírica o virión presenta una estructura y organización que depende del tipo de virus, pero que, en su composición, incluye un sólo tipo de ácido nucleico (ADN o ARN) asociado a proteínas o enzimas y recubierto de una cápside formada por la repetición de una o muy pocas proteínas y, en algunos casos, de una envoltura de naturaleza lipoproteica.
- Los virus se dividen en bacterianos, vegetales o animales, en función de la naturaleza de la célula hospedadora, y en virus ADN o ARN, dependiendo del tipo de ácido nucleico de la partícula viral.
- Desde un punto de vista bioquímico, los virus se dividen en seis grandes grupos o clases:
±ADN, -ADN, ±ARN, +ARN, -ARN y retrovirus.
- Los virus animales son responsables de numerosas enfermedades, por lo que el conocimiento de los mecanismos de infección y estrategias de multiplicación son de gran interés en medicina.
- Las etapas de multiplicación de un virus incluyen la interacción y penetración en la célula hospedadora, la replicación y expresión de su genoma, el ensamblaje del ácido nucleico viral con las proteínas virales para formar nuevas partículas víricas y la liberación de nuevas partículas con capacidad infectiva.
- Las características de cada una de estas etapas están relacionadas con la naturaleza del material genético del virus, de las proteínas codificadas por el mismo y de la naturaleza de la célula infectada.
- Determinados virus se multiplican y pueden producir la alteración o muerte de la célula infectada sin interaccionar con el ADN de la misma (vía lítica), mientras que otros se integran en el genoma de la célula hospedadora donde puede permanecer inactivo en forma de provirus (vía lisogena) hasta que, en respuesta a determinados estímulos, se establece la vía lítica.
- La mayoría de los virus animales de tipo ADN suelen replicarse y transcribirse en el núcleo de la célula infectada, utilizando su propia maquinaria, mientras que la síntesis de proteínas virales y el ensamblaje de las nuevas partículas virales tienen lugar en el citoplasma.
- Las estrategias de replicación y expresión de los virus ARN que infectan células animales dependen de la naturaleza del ARN de la partícula viral.
- En los virus +ARN, las moléculas de su genoma pueden actuar como ARNm en el citoplasma de la célula infectada dando lugar a la síntesis de diferentes proteínas virales, entre las que se encuentra la *replicasa de ARN*, que sirve para sintetizar nuevas moléculas de ARN complementario (-ARN) y, a partir de éste, generar copias de +ARN para incluir en las partículas virales.
- Los virus -ARN portan en la partícula viral la *replicasa de ARN*, por lo que en el citoplasma de la célula infectada se generan ARN complementario (+ARN) que sirve de ARNm para la síntesis de proteínas virales (incluida la replicasa de ARN) y de molde para la replicación y obtención de nuevas moléculas de -ARN para incorporar a la partícula viral asociada a la *replicasa de ARN*.
- Los retrovirus son virus ARN que para su multiplicación se integran en el genoma de la célula infectada, tras sintetizar un ADN viral a partir de su genoma de ARN, por medio de la *transcriptasa inversa*. A partir del provirus tiene lugar la expresión de los genes virales utilizando la *ARN polimerasa II* del huésped, produciendo poliproteínas que sufren un procesamiento proteolítico.
- Los retrovirus tumorales producen diferentes tipos de cáncer en gran variedad de animales a partir de los oncogenes presentes en el genoma viral.
- El VIH, que produce en el ser humano el síndrome de inmunodeficiencia adquirida o SIDA, presenta una regulación más compleja que otros retrovirus conocidos.
- Una pequeña proporción de cánceres humanos guarda en su génesis una cierta relación con determinadas infecciones virales.
- La utilización de vacunas, la producción de interferones y los fármacos antivirales son las herramientas disponibles en la terapia antivírica.

EVALUACIÓN

1. (A). Estructura y composición de los virus:
- La mayoría poseen un híbrido ADN/ARN en la partícula viral.
 - Algunos están formados exclusivamente por proteínas.
 - Los virus ARN son todos monocatenarios.
 - Un retrovirus infecta todos los tejidos del huésped.
 - Todo lo anterior es falso.
2. (B). Clasificación y características de los virus:
- Los virus +ARN portan la *replicasa de ARN* en la partícula viral.
 - Los reovirus poseen un genoma de ARN bicatenario.
 - El virión de los retrovirus contiene dos moléculas de ADN idénticas.
 - Los fagos son virus bacterianos.
- a b c d e
3. (A). Virus animales:
- La presencia de hemaglutinina en la cubierta del virus de la gripe es importante para el proceso de infección.
 - En la partícula viral del virus de la gripe existen varias moléculas distintas de ARN monocatenario.
 - La replicación del virus de la gripe necesita de *la transcriptasa reversa*.
 - La hemofilia está causada por un virus ADN.
 - Hay más de una respuesta correcta.
4. (B). Virus ARN eucarióticos:
- Los que en su genoma poseen una única molécula de ARN no pueden codificar varias proteínas.
 - Las cadenas complementarias a las del genoma de los del tipo -ARN sirven de ARNm.
 - Todos los retrovirus portan oncogenes.
 - Algunas proteínas virales pueden alterar el ciclo celular.
- a b c d e
5. (B). Virus de la inmunodeficiencia humana:
- Es un retrovirus que favorece la proliferación de los linfocitos T.
 - En su genoma existen genes que codifican proteínas reguladoras de la síntesis del ARN.
 - Posee un núcleo central rico en lípidos y glicoproteínas.
 - En la maduración de algunas de sus proteínas actúa una proteasa viral.
- a b c d e
6. (B). Estrategias de expresión de los virus ARN:
- En los virus -ARN, la síntesis del ácido nucleico viral precede a la síntesis de proteínas virales.
 - En los virus +ARN, la traducción de su información precede a la replicación de su genoma.
 - En los retrovirus, la integración en el genoma celular precede a su expresión.
 - Algunos ARNm de los virus -ARN poseen caperuzas en su extremo 5'.
- a b c d e
7. (A). Replicación de los ácidos nucleicos virales:
- Tiene lugar en el interior de la partícula viral.
 - La síntesis de las nuevas cadenas se produce en la dirección 3' → 5'.
 - Utiliza los nucleósidos trifosfato de la célula huésped.
 - Es un proceso más preciso que la replicación del genoma eucariótico.
 - Las replicas de ARN poseen actividad correctora.
8. (C). La formación de un virión de tipo -ARN capaz de multiplicarse requiere la incorporación de la *replicasa de ARN* a la partícula viral PORQUE dicha enzima es fundamental para la síntesis de los ARNm del virus y para la replicación del ARN viral.
- a b c d e
9. (A). Características de los genomas de los virus:
- Están formados por bases diferentes a las típicas de los ADN y ARN celulares.
 - Todos codifican el mismo número de proteínas.
 - Las proteínas virales sólo incorporan doce aminoácidos diferentes.
 - Su código genético presenta muchas variaciones en relación con el universal.
 - Todo lo anterior es falso.
10. (B). Terapias antivirales:
- El interferón favorece una respuesta antiviral disminuyendo la síntesis proteica.
 - Determinados fármacos antivirales son inhibidores de enzimas víricas.
 - Determinados análogos de nucleósidos son utilizados en este tipo de terapia.
 - En el tratamiento anti-SIDA se desaconseja el uso combinado de fármacos.
- a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Di Bisceglie AM, Bacon BR: Hepatitis C. *Inv y C* 1999; diciembre: 42-45.
- Graeme WG, Bischofgerger N, Webster RG: Desarme de los virus de la gripe. *Inv y C* 1999; marzo: 58-67.
- Haseltine WA: Fármacos contra virus. *Inv y C* 2002; enero: 16-23.
- Fischetti M: Vacuna antigripal. *Inv y C* 2001; abril: 86-87.
- Peisajovich SG, Shai Y: New insights into the mechanism of virus-induced membrane fusion. *TiBS* 2002; 27: 183-190.

29.1 GENERALIDADES

El cáncer es un conjunto de enfermedades caracterizadas por la proliferación incontrolada de células, que se encuentran dañadas genéticamente. Estas células presentan dos características fundamentales que las hacen potencialmente peligrosas para el organismo. En primer lugar, se reproducen sin responder a los mecanismos de regulación y control y, por otra parte, invaden regiones o zonas que corresponden a otras células. El vocablo cáncer procede del latín, *cancer/cancri* y del griego, *karkinos*, con el significado de cangrejo en ambos casos (originalmente se empleaba para designar a los tumores de mama, que al invadir tejidos vecinos adoptaban un aspecto que recordaba la forma de un cangrejo).

A continuación se definen una serie de términos importantes relacionados con el cáncer. Un *tumor* es una masa de células anormales que crecen de forma incontrolada. Si las células tumorales permanecen agrupadas en una masa sólida aislada localizada se trata de un *tumor benigno*. Si las células pueden escapar del tumor, invadir los tejidos adyacentes, pasar al torrente circulatorio, invadir ganglios y formar tumores secundarios en otras zonas alejadas se trata de un *tumor maligno* o *cáncer*, propiamente dicho. Este proceso de diseminación de un tumor en otras regiones se denomina *metástasis*.

El término *neoplasia* (literalmente, nuevo crecimiento) se utiliza comúnmente como sinónimo de tumor y ha sido definido como una masa anómala de tejido, cuyo crecimiento excede y no está coordinado con el de los tejidos normales y persiste, de un modo excesivo, después del cese de los estímulos que provocaron el cambio.

El cáncer se origina por cambios genéticos adquiridos somáticamente, asociándose el proceso, en ocasiones, a la existencia de predisposiciones hereditarias. Es una enfermedad genética que ocurre en el ámbito celular, como resultado de la acumulación de mutaciones en genes que controlan la división y muerte de las células. Estas alteraciones genéticas constituyen el principal factor iniciador, siendo también responsables de la progresión tumoral.

Los cánceres se clasifican según el tejido y tipo celular a partir del cual se originan. Los que proceden de células epiteliales se denominan *carcinomas*. La gran mayoría de los

cánceres pertenecen a este grupo (alrededor del 90%), en el que se incluyen los que afectan a la piel, a diversas glándulas, a las mamas y a muchos de los órganos internos. Los cánceres que proceden del tejido conjuntivo o de células musculares se denominan *sarcomas*. Los que derivan de la médula ósea se denominan *leucemias*. En ellos se encuentran implicadas las células hematopoyéticas y existe una cantidad excesiva de leucocitos. En los cánceres denominados *linfomas* existe una proliferación incontrolada de linfocitos.

El desarrollo de un cáncer implica la presencia de varias alteraciones genéticas en la célula; sólo una alteración no es suficiente para originarlo. Estas mutaciones se van acumulando en las células somáticas a lo largo de la vida, por lo que la probabilidad de desarrollar un cáncer, en la mayoría de los casos, aumenta considerablemente con la edad. El cáncer es una enfermedad celular y no una enfermedad de tejidos u órganos. La mayoría de las células cancerosas son genéticamente inestables y presentan defectos en los procesos de muerte y diferenciación celular.

Los genes que, al sufrir mutaciones, originan la transformación cancerígena se pueden clasificar en *protooncogenes* y en *genes supresores de tumor* u *oncosupresores* (del griego *ónkos*, tumor, hinchazón). Los *protooncogenes* son genes normales que codifican factores de crecimiento, receptores, enzimas o factores de transcripción relacionados con el crecimiento y la división celular. Diversas mutaciones en los *protooncogenes* los convierten en *oncogenes*, que constituyen la versión modificada anormal de aquéllos y son los responsables de la proliferación incontrolada de las células.

Los *genes supresores de tumor* codifican proteínas que restringen la proliferación de la transformación. Por ello, las mutaciones que conlleven la inactivación funcional de estos genes producen una disminución de la protección frente a la división celular incontrolada.

29.1.1 Etapas de la carcinogénesis

La carcinogénesis es un proceso que se desarrolla en diversas etapas, y aunque su número exacto se desconoce (pueden variar de un tipo de cáncer a otro), podrían diferenciarse del modo siguiente:

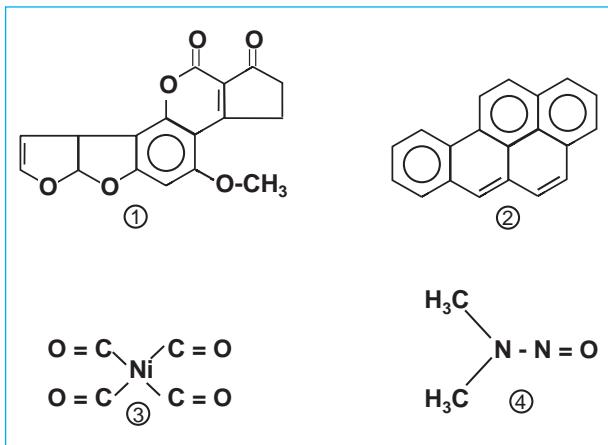


Figura 29-1. Carcinógenos químicos. 1) Aflatoxina B₁ y 2) benzo[a]pireno son carcinógenos químicos de acción indirecta, ya que expresan su poder mutagénico una vez que han sido metabolizados por el complejo enzimático intracelular citocromo P-450 oxidasa; 3) carbonilo de níquel y 4) dimetilnitrosamina son carcinógenos de acción directa.

1. **Iniciación.** En ella se produce la lesión molecular, con las posibles mutaciones en protooncogenes o genes supresores. Puede deberse a la exposición de células normales a carcinógenos químicos (de acción directa, como las nitrosaminas o los compuestos alquilantes; o indirectos, como los hidrocarburos policíclicos aromáticos, tales como el benzo[a]pireno —en el alquitrán y humo del tabaco— o la aflatoxina B₁ —toxina del hongo *Aspergillus flavus*—, que originan compuestos carcinogénicos tras ser metabolizados por el sistema *citocromo P-450 oxidasa*) (Fig. 29-1); carcinógenos físicos (radiación UV, radiación ionizante, como rayos X, rayos gamma, desintegraciones radiactivas); virus (virus ADN, como el virus de Epstein-Barr, los papilomavirus o el virus de la hepatitis B y retrovirus, como el virus linfotrófico de células T humanas [HTLV-1] o el virus de la inmunodeficiencia humana [VIH], con la producción de errores genéticos múltiples). Del número y la naturaleza de las mutaciones y de la rapidez de actuación de los sistemas correctores de los errores depende que el proceso se detenga o siga adelante.
2. **Promoción.** Fijación de la lesión molecular por proliferación y supervivencia de las células afectadas, con aumento de la posibilidad de daño genético por acumulación de mutaciones. En ocasiones, esto depende de la presencia de agentes denominados *promotores*, que no suelen ser mutágenos, sino que presentan una acción más bien *epigenética* (modificaciones en la expresión y diferenciación). Por lo general, los pro-

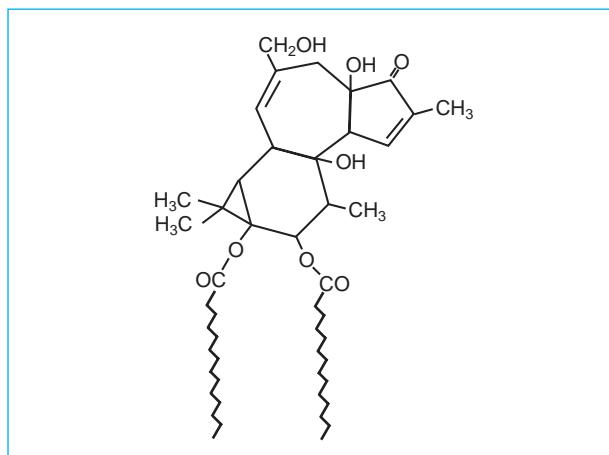


Figura 29-2. Éster de forbol. Los ésteres de forbol son promotores tumorales, necesarios para la fijación de la lesión tumoral y la supervivencia de las células cancerosas.

motores tumorales afectan al estado fisiológico del tejido en el que se produce el tumor. Un ejemplo de ellos lo constituyen los ésteres de forbol (Fig. 29-2).

3. **Progresión.** Consiste en la proliferación celular y el crecimiento autónomo del tumor. En esta etapa se produce un aumento de la inestabilidad genética, con una serie de hechos entre los que destacan: aneuploidía, con ganancia o pérdida de cromosomas; pérdida de ciertos dominios de los mismos; susceptibilidad a mutaciones superior a la normal; aumento en la probabilidad de amplificación de los genes, etc. En esta etapa se suele producir la malignización y el aumento de agresividad invasiva de las células tumorales.
4. **Invasión y metástasis.** Estos procesos, junto al de angiogénesis (desarrollo de nuevos vasos sanguíneos), se analizarán posteriormente.

29.2 CARACTERÍSTICAS DE LA CÉLULA CANCEROSA

29.2.1 Desarrollo y morfología

1. **Crecimiento.** Una de las características más típicas de este tipo de células es la *pérdida de la regulación de la proliferación*. En las células normales, el crecimiento y la división celular están perfectamente regulados; existen numerosos genes cuyos productos mantienen regulado el ciclo celular (véase el Cap. 27). En las células cancerosas este proceso regulador está alterado.

Otra de las características es la *desaparición de la inhibición por contacto*, que en las células normales hace que la proliferación se detenga cuando la población celular alcanza

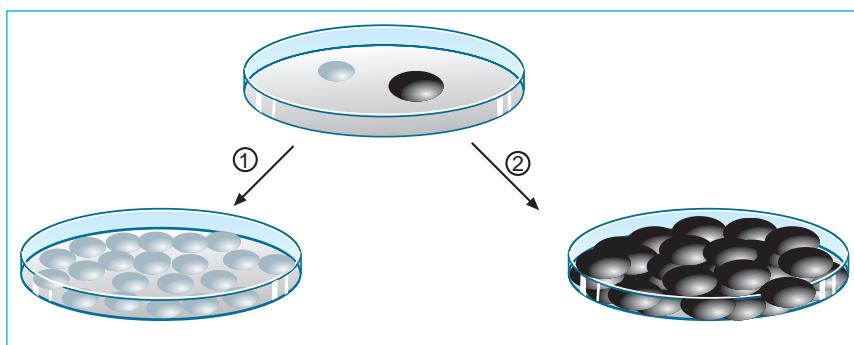


Figura 29-3. Ausencia de la inhibición por contacto en el crecimiento de las células tumorales en un cultivo celular. 1. Células sanas. 2. Células tumorales.

una determinada densidad (Fig. 29-3). Además, existe un menor requerimiento de factores de crecimiento o mitógenos para que se produzca el crecimiento y la división celular.

En el crecimiento incontrolado y la ausencia de regulación de la división celular pueden encontrarse implicados algunos de los siguientes hechos:

- a. Un aumento en el número de receptores en las células tumorales para factores de crecimiento esenciales.
- b. Producción de factores de crecimiento por las propias células tumorales, que actúan de forma autocrina, y de factores de transcripción, que son los responsables de los cambios en la expresión génica inducidos por los factores de crecimiento.
- c. Bloqueo de alguno de los procesos que se desencadenan en el interior de las células tumorales, permitiendo que alguna de las señales responsables del crecimiento se mantenga activa y persista en su acción.
- d. Aparición, por mutación de los genes correspondientes, de formas constitutivamente activas de receptores para factores de crecimiento, que envían de manera continua la señal mitógena al interior de la célula, incluso en ausencia de su ligando.
- e. Estimulación inadecuada de las vías de transducción de señales, que dan lugar a factores de transcripción activos.
- f. Síntesis de factores de transcripción anómalos con actividad inadecuada.

Todos estos hechos pueden originar la activación inapropiada e incontrolada de determinados genes que están implicados en la división celular.

2. *Diferenciación.* La expresión de los genes implicados en la diferenciación celular está regulada por hormonas y por factores de crecimiento y diferenciación (véase el Cap. 27). En las células tumorales se ha perdido esta capacidad de regulación, por lo que las células no se diferencian. En muchas ocasiones aparecen *oncoproteínas* (productos de

expresión de oncogenes) que actúan como factores de transcripción, que se unen a zonas reguladoras de los genes implicados en la diferenciación, e inhiben la misma. Se impide así la especialización de la célula en cuestión. En la pérdida de diferenciación están implicados los siguientes hechos:

- a. Pérdida de equilibrio entre proliferación y quiescencia, con ausencia de respuesta por falta de sensibilidad a factores de diferenciación terminal.
 - b. Inexistencia de diferenciación terminal o diferenciación aberrante, lo que implica un incremento del crecimiento.
 - c. Escape de las células del mecanismo de senescencia proliferativa, lo que conlleva la ausencia de *apoptosis* y la existencia de *inmortalidad celular* (véase el Cap. 27). Las alteraciones en los genes que codifican las proteínas implicadas en la supervivencia o en la muerte celular son responsables de la ausencia de apoptosis. El mecanismo más común está relacionado con la inactivación del *p53*, uno de los genes supresores de tumor más importantes.
 3. *Soporte y comunicación.* El crecimiento y la diferenciación celular dependen, asimismo, de los contactos entre los componentes de la membrana plasmática (véase el Cap. 27). En las células tumorales suele producirse una alteración en las propiedades de su superficie. Ello puede significar que pierdan la necesidad de unirse a un soporte y puedan crecer en suspensión, como consecuencia de modificaciones en el citoesqueleto celular. Las células cambian en su forma, haciéndose redondeadas.
- En el crecimiento, en células, tanto normales, como tumorales, se producen, entre otros, procesos de fosforilación de residuos de tirosina, serina y treonina de las proteínas. En lo referente a la morfología celular, la pérdida de regulación de estos procesos conduce a modificaciones en la forma y en la adhesión a otras células. Así, por ejemplo, en los filamentos intermedios de las células cancerosas, la *vinculina* es una

proteína que aumenta su fosforilación en tirosina en un factor de veinte. El efecto inmediato de este aumento tan significativo en el nivel de fosforilación es la desintegración de las placas de adhesión, lo que conlleva la pérdida de comunicación con el exterior. De forma análoga, la misma placa de adhesión puede sufrir fosforilación en la *fibronectina* (uno de los componentes de la matriz extracelular). Ello hace que disminuya considerablemente la adherencia en la matriz extracelular. También, se han descrito en células tumorales varias formas aberrantes de actina, así como una síntesis anormal de queratinas, proteínas típicas de los filamentos intermedios de las células cancerosas.

29.2.2 Metabolismo

Otto Warburg observó que las células cancerosas sintetizan más lactato que las células normales. A este hecho se le conoce como *efecto Warburg*. A partir de esta observación, propuso la existencia de una respiración disminuida en las células cancerosas e, incluso, llegó a aventurar que las células tumorales se producían a consecuencia de una lesión irreversible de la respiración. Ello conllevaría un incremento de la glicólisis para compensar la respiración deficitaria y un estado de anaerobiosis.

En las células normales, la producción de energía mediante la respiración inhibe la glicólisis, hecho conocido como *efecto Pasteur*. Por el contrario, en las células tumorales, en las que existe un aumento considerable de la glicólisis, el efecto Pasteur se reduce considerablemente, y adquiere importancia el *efecto Cabtree*, que consiste en la supresión del consumo de oxígeno en la célula debido al desarrollo de la glicólisis (hasta un 50% en el carcinoma ascítico de Ehrlich). Como consecuencia, se incrementa la fase anaerobia de la glicólisis.

Las células tumorales degradan hasta lactato de 5 a 10 veces más glucosa que las normales y el lactato se transforma en glucosa en el hígado mediante la gluconeogénesis, proceso energéticamente costoso (véase el Cap. 14). El incremento del funcionamiento del *ciclo de Cori* (véase el Cap. 14) viene a suponer un aumento del 20% del consumo energético diario. Estos hechos contribuyen a la atrofia metabólica del organismo, proceso conocido con el nombre de *caquexia*, y que es característico de los estados cancerosos.

En cualquier caso, la glicólisis anaerobia existente es proporcional a la velocidad de crecimiento del tumor. Es, asimismo, característico un estado hipoglucémico en pacientes con tumores malignos, y parece claro que las células tumorales conservan la dotación completa de las enzimas del ciclo de los ácidos tricarboxílicos y de la cadena respiratoria.

Las razones para un nivel tan intenso de glicólisis en tejidos con alto porcentaje de proliferación celular pueden ser

múltiples: *a)* no llega suficiente riego sanguíneo a las células (no se ha producido aún una correcta angiogénesis) y ello hace necesario que se produzca glicólisis anaerobia para el crecimiento y la división celular; *b)* para mantener la elevada síntesis de macromoléculas esenciales, como ADN, ARN, proteínas, polisacáridos y lípidos, demandada por el alto ritmo de proliferación celular; *c)* existe un cambio en la distribución de isoenzimas de la glicólisis, que se hacen similares a las existentes en los tejidos fetales, con una mayor capacidad glicolítica y con menor capacidad de responder a las señales de regulación metabólica. Así, se ha descrito la presencia en las células tumorales de una forma fetal de la *fosfofructoquinasa*, que no es sensible a la inhibición por ATP o citrato.

Las características típicas de los procesos cancerígenos se reflejan en la síntesis y actividad de las enzimas. Aunque en cada tipo de cáncer, según su origen y desarrollo, existen enzimas directamente afectadas, se producen modificaciones enzimáticas comunes a las células tumorales con independencia de su origen. Una de ellas, mencionada en el párrafo anterior, es la reaparición de isoenzimas fetales, que habían sido sustituidas en el desarrollo por las formas adultas, y que vuelven a ser sintetizadas en células poco diferenciadas. Otras modificaciones afectan al aumento de la actividad de enzimas implicadas en los procesos de síntesis de ADN y sus componentes (bases nitrogenadas, ribosa-fosfato), para responder a las necesidades de la elevada velocidad de división celular. Otro grupo de enzimas, cuya síntesis y secreción suele aumentar, lo constituyen las proteasas, que son necesarias para la invasión de otros tejidos y la diseminación celular.

Otra característica típica de los tumores es que actúan como atrapadores de nitrógeno. Ello determina un desequilibrio en el balance nitrogenado y hace que se produzca un balance proteico negativo, con la subsiguiente hipoalbuminemia y el desarrollo de la caquexia. La glutamina parece ser el principal vehículo transportador de nitrógeno entre los tejidos del enfermo y el tumor.

29.2.3 Características inmunológicas

Ya en 1909, Paul Ehrlich sostendía que todos los seres humanos morirían a causa del desarrollo de tumores si el sistema inmunitario fuera incapaz de eliminar lo que él denominaba «gérmenes aberrantes», es decir, las células transformadas tumorales. Posteriormente, la aceptada teoría de la vigilancia antitumoral del sistema inmunitario proponía que la aparición de células transformadas es frecuente, pero el sistema las elimina antes de que sean detectables en la práctica clínica. No obstante, la inmunidad antitumoral es complicada. Para poder actuar, el sistema debe reconocer como ajenas a

células propias y debe ignorar la tolerancia innata que protege contra la autodestrucción.

Los antígenos tumorales más importantes se clasifican en dos categorías principales: antígenos únicos específicos del tumor y antígenos vinculados a tumores. Los *antígenos únicos específicos del tumor* se detectan sólo en las células tumorales y representan, por tanto, los blancos individuales para un ataque inmunitario. Los *antígenos vinculados a tumores* se hallan en las células tumorales y también, en algunas normales. Los más importantes son los *antígenos oncofetales*, que se expresan durante la embriogénesis, pero

están ausentes o son difícilmente detectables en el tejido normal adulto. Aparecen en la célula tumoral durante la vida adulta (expresión retrogénica). Entre ellos destacan el *antígeno carcinoembrionario (CEA)* y la *alfafetoproteína*. Ambos se utilizan como *marcadores tumorales* (véase Recuadro 29-1).

Una amplia variedad de proteínas celulares funciona como antígenos. Algunas son inexistentes en condiciones normales y se sintetizan como resultado de la transformación; en otros casos, las mutaciones de los genes que las codifican determinan la expresión de nuevos epítopos. En

Recuadro 29-1.

MARCADORES TUMORALES DE SECRECIÓN

Son sustancias producidas o inducidas por la célula neoplásica, que reflejan su crecimiento o actividad, y que permiten conocer la presencia, evolución o respuesta terapéutica de un tumor maligno. Un marcador ideal debería reunir las siguientes propiedades: estar presente en los tumores; ser secretado por ellos; ser detectable en los líquidos biológicos; ser cuantificable de forma fácil y reproducible; no estar influido por procesos no tumorales; y correlacionarse con el desarrollo de la lesión maligna, tanto en presencia, como en ausencia de tratamiento.

El número de marcadores de secreción descritos es muy elevado. Sin embargo, no existen marcadores tumorales con una sensibilidad y especificidad suficientes para emplearse, de forma general e infalible, en el diagnóstico precoz del cáncer. No obstante, muchos de ellos tienen una aplicación diagnóstica, pronóstica y de detección precoz de recidivas. Los más utilizados son los siguientes:

- **Antígeno carcinoembrionario (CEA).** Glicoproteína que también está presente en los tejidos embrionarios. Es inespecífico, aunque se usa principalmente en los carcinomas colo-rectales.

- **α -fetoproteína (AFP).** Glicoproteína útil para el seguimiento de carcinomas de hígado.
- **Subunidad β de la gonadotropina coriónica (hCG).** Utilizada en coriocarcinomas y carcinomas embrionarios.
- **Antígeno carbohidrato 125 (CA 125).** El epítopo se localiza en una glicoproteína de alto peso molecular. No es específico, aunque su principal aplicación son los carcinomas de ovario.
- **Antígeno carbohidrato 15.3 (CA 15.3).** Lo expresan las células del cáncer de mama, por lo que su mayor utilidad se centra en este tipo de neoplasia.
- **Antígenos carbohidrato 19.9 (CA 19.9) y 242 (CA 242).** Utilizados en los carcinomas de páncreas.
- **Antígeno carbohidrato 19.5.** Utilizado en el carcinoma de páncreas, de ovario y pulmonar.
- **Propéptido aminoterinal del pro-cólágeno III (PIIINP).** Utilizado en el carcinoma de ovario.
- **Antígeno polipeptídico tisular (TPA).** Utilizado en carcinoma de mama y de pulmón.
- **Antígeno polipeptídico tisular específico (TPS).** Utilizado en carcinomas de mama, de pulmón y de ovario.
- **Enolasa neuronal específica (NSE).** Enzima glicolítica utilizada en el carcinoma pulmonar.
- **β_2 -Microglobulina (β_2 -mc).** Proteína de bajo peso molecular usada en linfomas, mielomas y leucemias.
- **Antígeno asociado al carcinoma de células escamosas (SCC).** Usado en el carcinoma cervical uterino.
- **Proteína asociada a tumores (TAG-72).** Utilizada en los tumores gástricos.
- **Antígeno prostático específico (PSA).** Utilizado en el carcinoma de próstata. A partir del PSA, se calcula el Índice PSAlibre/PSA total y el Índice PSA en complejos/PSA total, indicadores de este tipo de carcinoma.
- **HER2/erbB-2.** Carcinomas de mama y ovario.
- **HK2.** Miembro de la familia de las calicreinas, utilizado para el carcinoma mamario y prostático.
- **Péptido liberador de gastrina (GRP).** Utilizado para los carcinomas microcíticos.
- **Cromogranina A.** Utilizado para el carcinoma de próstata.
- **MIA (actividad inhibitoria del melanoma).** Utilizado en el melanoma.
- **Proteína S-100 B.** Utilizado en el melanoma.
- **Tiroglobulina.** Marcador de los carcinomas diferenciados de tiroides.
- **Calcitonina.** Marcador de los carcinomas medulares de tiroides.
- **Citoquinas.** En este grupo se incluyen linfoquinas, monoquinas, interferones, factores de necrosis tumoral y factores de crecimiento. Se utilizan como marcadores en numerosos procesos neoplásicos.

otras ocasiones, los antígenos tumorales son glicolípidos de membrana que, con la transformación, han variado parte de su estructura, convirtiéndose en nuevos determinantes antigenicos. Otros antígenos que se asocian a tumores son aquellos que sólo se expresan en células en división, como ocurre en el caso de determinados receptores proteicos.

La respuesta inmunitaria más eficiente del organismo es la respuesta inmunitaria celular desencadenada mediante la acción de los linfocitos T. La respuesta inmunitaria humoral parece menos efectiva en la defensa frente al desarrollo tumoral. En cualquier caso, el desarrollo del tumor implica que las células tumorales han burlado al sistema inmunitaria.

Las células tumorales diseñan estrategias variadas para evitar la acción del sistema inmunitario en el desarrollo del tumor. A este proceso se le conoce como *escape inmunitario* y entre las maniobras evasivas de las células tumorales se encuentran las siguientes:

1. Modulación antigenica: en presencia de los anticuerpos correspondientes, los antígenos desaparecen de la superficie celular pasando al interior de la célula o dejan de expresarse.
2. Liberación de antígenos: los antígenos son secretados por la célula y, en forma soluble, se unen a los anticuerpos correspondientes, secuestrándolos y evitando que éstos actúen sobre las células tumorales. Forman los denominados inmunocomplejos circulantes.
3. Actividad disminuida de las proteínas asociadas con el transporte de antígenos (TAP-1, TAP-2).
4. Camuflaje: los tumores intentan mimetizar los tejidos del huésped.
5. Supresión de la respuesta inmunitaria por falta de producción de anticuerpos, debido a la propia presencia de las células cancerosas y al estado general del organismo. En este proceso se encuentran implicadas situaciones de caquexia y malnutrición.
6. Las células tumorales pueden producir inhibidores de linfocitos y macrófagos, tanto en lo que se refiere a la respuesta frente a antígenos, como en la diferenciación, maduración y activación de estas células. Un ejemplo lo constituye el factor beta de crecimiento tumoral (TGF-β).
7. Enmascaramiento de antígenos: sustancias como la sialomucina se unen a la superficie de las células tumorales, enmascaran el antígeno y evitan la adhesión de, por ejemplo, linfocitos citotóxicos.
8. Atrapamiento linfocitario: los linfocitos son atrapados por los ganglios linfáticos en la cercanía de la zona del tumor.

29.3 ASPECTOS GENÉTICOS DEL CÁNCER

29.3.1 Protooncogenes y oncogenes

Los *protooncogenes* son genes celulares normales que cuando se modifican o activan hasta *oncogenes*, originan la pérdida de regulación de las vías de crecimiento y diferenciación, y aumentan la posibilidad de transformación neoplásica (Tabla 29-1). Carcinógenos químicos, físicos, bacterianos o virales pueden conducir a la activación de estos protooncogenes. Las proteínas codificadas por los oncogenes, denominadas *oncoproteínas* o *proteínas oncogénicas*, intervienen usualmente en mecanismos de señalización que regulan la proliferación y diferenciación celulares (véase el Cap. 27). Por convenio, los oncogenes se escriben en cursiva y las proteínas que codifican, con mayúscula sin cursiva; los protooncogenes se escriben como los oncogenes, pero con una «c» y un guion precediendo al nombre del oncogén. Así, por ejemplo, existe el protooncogén *c-ras*, el oncogén *ras* y la oncoproteína *ras*. A los oncogenes que proceden de virus se les antepone la letra «v» y un guion, como en el *v-ras*.

En las células cancerosas se han descrito varios tipos de mutaciones y modificaciones, y todas ellas pueden llevar, en principio, a la activación de protooncogenes y su conversión en oncogenes. Las principales son:

- a. *Mutación puntual*. Se producen sustituciones de aminoácidos o el fin prematuro de la traducción. Abunda, por ejemplo, en la familia de los oncogenes *ras*, implicados en la leucemia mieloide aguda (*K-ras*), el melanoma (*H-ras*, *N-ras*), el carcinoma vesical (*N-ras*), etc.
- b. *Translocación cromosómica*. Puede dar lugar a la translocación de genes implicados en el control de la división celular. Está relacionada con varios tipos de leucemia y linfomas. Un protooncogén puede quedar bajo el control de un promotor genético diferente, originando la sobreexpresión de una proteína. Es el caso del linfoma de Burkitt. En este tipo de cáncer, el extremo distal del brazo largo del cromosoma 8 se transloca al cromosoma 2, 14 o 22. Ello determina que *c-myc* sea controlado por genes de inmunoglobulinas y que se sobreexprese; y puesto que Myc controla otros genes en el crecimiento celular, da lugar a que se produzca un crecimiento incontrolado de linfocitos. En otros casos, como en la leucemia mieloide crónica, en la que está implicado el llamado cromosoma Filadelfia (cromosoma 22 acortado por translocación con parte del 9), se produce la fusión de dos genes que da lugar a una proteína híbrida oncogénica. En el cromosoma Filadelfia, el resultado es una proteína originada por la fusión del gen *c-abl* y el *c-bcr*.

Tabla 29-1. Oncogenes en tumores humanos

Oncogén	Tipo de cáncer	Mecanismo de activación	Producto
<i>abl</i>	Leucemia mielogénica crónica Leucemia linfocítica aguda	Translocación	Tirosina quinasa
<i>bcl-2</i>	Linfomas	Translocación	Inhibición de la liberación del citocromo c
<i>erbB-2</i>	Cáncer de mama y ovario	Amplificación	Receptor EGF ¹
<i>gip</i>	Cáncer de ovario y corteza suprarrenal	Mutación puntual	Proteínas G
<i>gsp</i>	Cáncer de tiroides	Mutación puntual	Proteínas G
<i>c-myc</i>	Linfoma de Burkitt	Translocación	Factor de transcripción
<i>c-myc</i>	Cáncer de mama y pulmón	Amplificación	Factor de transcripción
<i>L-myc</i>	Cáncer de pulmón	Amplificación	Factor de transcripción
<i>N-myc</i>	Neuroblastoma y cáncer de pulmón	Amplificación	Factor de transcripción
<i>sis</i>	Leucemia mielomonocítica crónica	Translocación	Factor de crecimiento
<i>H-ras</i>	Cáncer de tiroides	Mutación puntual	Proteínas G
<i>K-ras</i>	Cáncer de colon, pulmón, páncreas y tiroides	Mutación puntual	Proteínas G
<i>N-ras</i>	Leucemia mielogénica aguda Cáncer de tiroides	Mutación puntual	Proteínas G
<i>ret</i>	Neoplasia endocrina múltiple	Mutación puntual	Proteína asociada a receptor
<i>ret</i>	Cáncer de tiroides	Reorganización del ADN	Proteína asociada a receptor

¹ EGF = Factor de crecimiento epidérmico

- c. *Amplificación génica y poliploidía.* Se producen amplificaciones en segmentos de cromosomas. Así, la amplificación del *myc* está relacionada con la aparición de cáncer de mama, de pulmón o de cerebro; la amplificación del *erbB-2* se asocia con el cáncer de mama y de ovarios. El exceso en el número normal de cromosomas (poliploidía) se relaciona con un aumento de la malignidad del cáncer.
- d. *Pérdida de material cromosómico.* Se originan eliminaciones (deleciones) de ADN en tumores sólidos, como los cánceres de pulmón, de mama, de próstata, de colon, de cérvix, de ovario, etc.
- e. *Pérdida alélica.* Relacionada con la anterior. Generalmente se produce pérdida de más de un alelo en el tejido tumoral. Se correlaciona con la malignidad del tumor. A mayor pérdida de alelos, peor es el pronóstico.
- f. *Inserción viral.* Existen virus con capacidad oncogénica (véase el Cap. 28). Tanto los virus oncogénicos de ADN, como los de ARN (los retrovirus), al insertar su material genético en el huésped pueden alterar la expresión

sión de un protooncogén del hospedador, al quedar éste, por azar, bajo control del gen viral (*mutagénesis de inserción*). En otras ocasiones, el virus aporta al genoma del hospedador un nuevo oncogén presente en el genoma viral. Así, el virus de la hepatitis B puede originar carcinoma de hígado o el de Epstein-Barr puede dar lugar a cáncer nasofaríngeo o linfomas. Entre el 15-20% de los cánceres humanos tiene un origen asociado a virus, aunque se necesitan otros factores para que se desencadene el proceso de malignización.

- g. *Incapacidad de reparación de mutaciones en el ADN.* Esta incapacidad se origina por alteraciones genéticas hereditarias que suelen afectar a varios miembros de una familia, incluso a edades muy tempranas. La inexistencia de estos mecanismos de reparación lleva consigo el incremento de mutaciones en todo el genoma y, por tanto, en protooncogenes. Es el caso del *xeroderma pigmentosum*, en el que no se eliminan los dímeros de pirimidinas ocasionados por la radiación UV (véase el Cap. 19). La consecuencia es una mayor incidencia de melanomas en los afectados.

Productos de los oncogenes

Los oncogenes se pueden clasificar según la función que desempeñan sus productos. Así, estos productos pueden actuar como: *a*) factores de crecimiento; *b*) receptores y proteínas asociadas a receptores, situados mayoritariamente en la membrana celular; *c*) proteínas citoplasmáticas transmisoras o de señalización (transmiten una señal desde los receptores hasta el núcleo), y *d*) proteínas nucleares, que actúan como factores de transcripción, que reciben información desde los receptores y modifican la expresión de genes implicados en la regulación de la proliferación (Tabla 29-1). Todas estas oncoproteínas originan una pérdida del control de la proliferación y el desarrollo tumoral.

- a.* En el caso de los factores de crecimiento, la acción oncogénica se debe a su expresión anormal, lo que lleva consigo que la célula pueda sufrir una estimulación autocrina al responder a un factor de crecimiento que ella misma produce y, como consecuencia, se origina una proliferación anormal de la célula. Es el caso del oncogén *sis*, cuyo producto es el *factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)*.
- b.* En los receptores y las proteínas afines, la acción oncogénica se encuentra asociada a una incontrolada actividad *quinasa*, con la subsiguiente ausencia de regulación de la función de las proteínas (véase el Cap. 12). La mayoría de estos receptores poseen actividad *tirosina quinasa*. En condiciones normales, la unión de los factores de crecimiento produce un cambio conformacional que determina la formación de dímeros de receptor, lo que implica un aumento de la actividad *tirosina quinasa* en los dominios intracelulares. En cambio, en la proteína oncogénica, la actividad quinasa deja de estar regulada y produce la pérdida del control proliferativo. Un ejemplo lo constituye el oncogén *erbB*, cuyo producto es el *receptor del factor de crecimiento epidérmico*, con actividad *tirosina quinasa*.
- c.* En lo que concierne a las proteínas citoplasmáticas transmisoras de señales, se trata, en su gran mayoría, de *quinasas de tirosina*, en las que una estimulación permanente de dicha actividad *quinasa* es oncogénica. Es el caso del producto del oncogén *src* o del *abl*. En otros casos, las proteínas producto son proteínas G con propiedades oncogénicas (véase el Cap. 12). Es el caso de las proteínas Ras, productos de los oncogenes *ras*, que permanecen unidas a GTP y activadas de forma continua, lo que provoca la proliferación celular incontrolada. Este hecho se debe, en gran medida, a que las proteínas Ras no responden a GAP (proteína activadora de la *GTPasa*).

- d.* Otro tipo de proteínas transmisoras de señales son las *quinasas de serina y treonina*. Un ejemplo típico lo constituyen las proteínas Raf, producto del gen *raf*. Estas proteínas, cuando se activan por las proteínas Ras oncogénicas, conducen a la activación permanente de las *MAPquinasas* o MAPK y la consiguiente fosforilación de factores de transcripción, y a la alteración de la expresión génica. Las proteínas Ras y Raf están implicadas en la señalización y el control de la mitosis (véase el Cap. 27).
- e.* Existen oncoproteínas que se unen al ADN y actúan como factores de transcripción. Su acción oncogénica está basada en la activación o represión de la expresión de un gen. Es el caso de los productos de los oncogenes *jun* y *fos*, que forman parte del factor de transcripción AP-1, implicado en la transcripción de genes en las células estimuladas por factores de crecimiento. La aparición de las oncoproteínas Fos o Jun determina la acción incontrolada de AP-1, lo que lleva consigo la expresión anormal de esos genes y, por ello, una proliferación celular anormal. Otro ejemplo los constituye el producto del oncogén *myc*.

Es interesante señalar que, en algunos casos, las proteínas oncogénicas actúan como factores de transcripción que regulan la diferenciación celular. Esto sucede con el oncogén *erbA*, cuyo producto oncogénico, el receptor de la hormona T₃ modificado, reprime permanentemente la diferenciación celular; o, en el caso de la proteína oncogénica PML/RAR α , receptor modificado del ácido retinoico, que mantiene la proliferación indiferenciada de las células leucémicas, en la leucemia promielocítica aguda humana.

Genes oncosupresores

Los *genes oncosupresores*, también denominados *genes supresores de tumor* o *antioncogenes*, se pueden definir como genes celulares normales, que codifican proteínas que bloquean la progresión a través del ciclo celular o contrarrestan el efecto activador de los factores de crecimiento (Tabla 29-2). Cuando son inactivados, se pierde la regulación de las vías de crecimiento y diferenciación, y aumenta la probabilidad de transformación neoplásica. Entre los efectos de los genes supresores de tumor podemos destacar: *a*) inducir la diferenciación terminal; *b*) mantener la estabilidad genómica; *c*) disparar los mecanismos de senescencia; *d*) inducir la apoptosis; *e*) regular el crecimiento celular.

Entre los genes supresores de tumor, los más conocidos son el *rb* y el *p53*, que expresan la proteína Rb (pRb, proteína del retinoblastoma) y la proteína p53. Estas proteínas controlan el ciclo celular, y están implicadas en la inhibición de la proliferación celular. Mutaciones en estas proteínas origi-

Tabla 29-2. Genes supresores de tumor

<i>Gen</i>	<i>Tipo de cáncer</i>
<i>APC</i>	Cárcinoma de colon
<i>BRCA1</i>	Cárcinoma de mama y ovario
<i>BRCA2</i>	Cárcinoma de mama
<i>DPC4</i>	Cárcinoma de páncreas
<i>INK4A-ARF</i>	Melanoma, carcinoma de pulmón
<i>MADR2</i>	Cárcinoma de colon
<i>MEN1</i>	Cárcinoma de páncreas
<i>NF1</i>	Neurofibromas periféricos
<i>NF2</i>	Meningiomas y schwannomas
<i>PAC</i>	Cárcinoma de colon
<i>p53</i>	Síndrome de Li-Fraumeni, carcinoma de mama, de colon, de esófago, hepático, de pulmón, leucemias, tumor cerebral
<i>PTC</i>	Cárcinoma de células basales
<i>PTEN</i>	Tumor cerebral, melanoma, carcinoma de próstata, de endometrio, de riñón y de pulmón
<i>Rb</i>	Retinoblastoma, sarcomas, carcinoma de vesícula, de mama y de pulmón
<i>VHL</i>	Cárcinoma renal
<i>WT1</i>	Tumor de Wilms

nan una proliferación celular incontrolada. Los mecanismos de acción moleculares de ambas han sido ya descritos en el Capítulo 27.

La proteína *p53* impide la replicación del ADN si éste se encuentra dañado. Por un lado, actúa como factor de transcripción. Para ello, activa la transcripción de inhibidores del ciclo celular, como la proteína *p21*, e impide que la célula sobrepase la fase G₁ del ciclo celular, parándolo antes de que se produzca la replicación, permitiendo la reparación del ADN. Además, en caso de células con genomas fuertemente dañados o en el caso de que la reparación sea imposible, la proteína *p53* promueve la apoptosis de las mismas para evitar la transmisión de información potencialmente carcinogénica. Las células que no poseen *p53* son incapaces de sufrir apoptosis en respuesta a los agentes que dañan el ADN (lo que constituye una de las causas de resistencia de los tumores a la quimioterapia). Por todo ello, la *p53* ha sido apodada «guardián del genoma». Se ha comprobado que más del 50% de los tumores malignos humanos presentan mutaciones en el *p53*. Las mutaciones hereditarias de *p53* son responsables del síndrome de *Li-Fraumeni*, en el que los pacientes afectados pueden sufrir diversos tipos de cánceres.

Otro gen supresor de tumor es el *INK4-ARF*, cuyo producto es la proteína *p16*, que actúa como inhibidor de las quinasas dependientes de ciclinas (CDK4 y CDK6), lo que conlleva la inhibición de la proliferación por bloqueo del ciclo celular.

En otras ocasiones, el mecanismo de actuación de los productos de los genes oncosupresores consiste en bloquear la acción de los oncogenes. Así, la proteína *PTEN*, producto del gen supresor *PTEN*, es una fosfatasa que desfosforila a un fosfatidil inositol (PIP₃), que es necesario para la activación del oncogén *akt*, implicado en la supervivencia y proliferación celular.

29.4 METÁSTASIS Y ANGIOGÉNESIS

La *metástasis* es el proceso de diseminación, por vía circulatoria (sanguínea o linfática), de células tumorales desde un tumor primario para producir un nuevo crecimiento (tumor secundario) en órganos o regiones distantes del tumor primario (Fig. 29-4).

El proceso de metástasis consta de una serie de pasos obligados. De no cumplirse, la célula es eliminada. Todos los

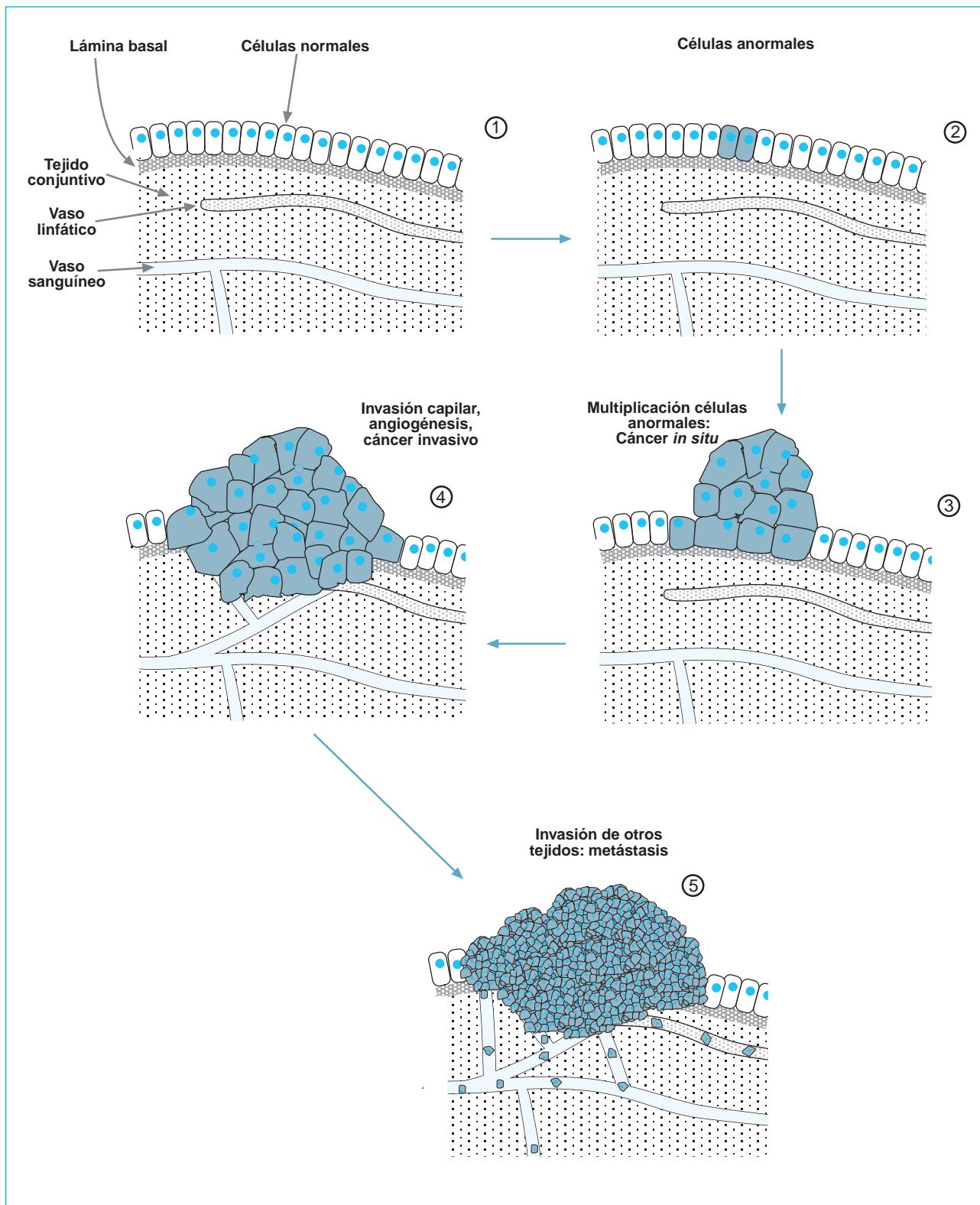


Figura 29-4. Proceso de diseminación de células tumorales y formación de metástasis. 1. Tejido normal; 2. Células anormales; 3. Tumor primario; 4. Degradación de la membrana basal. Angiogénesis; 5. Intravasación, incorporación de las células tumorales al sistema circulatorio y transporte hasta otros órganos, donde formarán metástasis.

pasos, por tanto, limitan el proceso, y se pueden esquematizar del modo siguiente:

1. Invasión de la membrana basal. La célula cancerosa se une a la membrana basal, a través de receptores glicoproteicos que reconocen glicoproteínas de la membrana basal, como laminina o fibronectina.
 2. Degradación de la membrana basal por acción de proteasas, fundamentalmente *metaloproteinasas*, como *colagenasas* y *estromelisin*.
 3. Movimiento e infiltración de la célula tumoral, a través de la membrana basal hacia el estroma circundante. Factores autocrinos y citoquinas regulan estos desplazamientos.
 4. Incorporación al sistema circulatorio por intravasación. Entrada en vénulas delgadas o canales linfáticos (sangre o linfa).
 5. Transporte en el torrente circulatorio bien en forma de pequeños trombos, constituidos por agregados celulares, o bien, como células individuales.
 6. Supervivencia de estos trombos frente a las defensas del sistema inmunitario (linfocitos, monocitos, células citocidas o citolíticas —NK—), y frente a defensas no inmunitarias (turbulencias de la sangre, paso por capilares muy estrechos, etc.).
 7. Detención y adherencia en algún lugar de la red de capilares, próximo a algún órgano lejano al de origen.
 8. Extravasación. Algunas células tumorales atraviesan las paredes de estos capilares y se introducen en el tejido u órgano. Para ello, tras eliminar las células endoteliales de esa zona, segregan proteasas que destruyen la membrana basal de los vasos.
 9. Proliferación en el parénquima del órgano y desarrollo de una vasculatura adecuada (angiogénesis), sobreviviendo nuevamente a factores del sistema inmunitario y respondiendo a factores específicos del órgano que influyen en su crecimiento.
 10. Posible reiteración de todo el proceso con la siguiente producción de metástasis secundarias, o las denominadas metástasis de metástasis.
- a. Disminución de la expresión o inactivación de *cadherinas*, glicoproteínas de adhesión que mantienen unidas las células e impiden su movimiento y la invasión celular. En carcinomas de estómago, de mama y de colon se ha identificado al gen de la cadherina E como un gen supresor de tumor.
- b. Disminución de las *integrinas* (receptores de membrana de la célula) que la mantienen unida con otras células y aumento de la expresión de las *integrinas* que favorecen la migración a través de la membrana basal y otros tejidos.
- c. Existencia de la variante con poder metastático de las *proteínas CD44*, glicoproteínas de membrana, también implicadas en la adhesión celular.
- d. Disminución de los niveles de *inhibidores de proteinasas (ITMP)*, secretados por las propias células tumorales y por las células normales del entorno.
- e. Expresión de oncogenes que impliquen el desarrollo de la metástasis tras la proliferación. Así, por ejemplo, la expresión del oncogén *src* implica la fosforilación de cadherina y, con ello, su incapacidad para mantener unidas las células. En otros casos, como en las células metastásicas de melanoma se ha encontrado activado el gen *RhoC*, implicado en procesos de motilidad celular.
- f. Disminución de la expresión de genes supresores de metástasis, como el *nm23*.

La *angiogénesis* puede definirse como el proceso de desarrollo de nuevos vasos sanguíneos, producidos a partir del crecimiento y la ramificación de vasos preexistentes (Fig. 29-5). Se diferencia de la *vasculogénesis*, que consiste en la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de células precursoras de los vasos sanguíneos embrionarios. Asimismo, es un proceso diferente al de *expansión vascular*, habitualmente producido tras pérdidas sanguíneas y, que tiene como objetivo, el aumento del diámetro del vaso para transportar mayor cantidad de sangre.

Las células tumorales pueden inducir la angiogénesis mediante la producción de varios factores angiogénicos, tales como el factor de crecimiento de fibroblastos, el factor de crecimiento endotelial vascular o el factor de crecimiento derivado de plaquetas.

El proceso de angiogénesis consta de varios pasos que comienzan con la estimulación de las células endoteliales, que rompen la membrana basal y se disponen hacia el lugar donde se ubica el tumor. A continuación, se produce la expansión y elongación de los nuevos vasos inmaduros. Se prosigue con la canalización, es decir, la formación de un entrampado, junto con la ramificación y el establecimiento de conexiones que dan lugar a la red vascular. Finalmente, la red capilar, ya madura, se rodea por la membrana basal y otras células perivasculares.

En cualquier caso, hay que tener en cuenta que la simple presencia de células tumorales en la circulación no implica necesariamente la aparición de metástasis, ya que suelen ser rápidamente eliminadas, y tras circular durante 24 horas, sólo menos del 0.1% consigue sobrevivir. De hecho, se estima que de las células tumorales circulantes, sólo menos del 0.01% consiguen iniciar una metástasis.

Entre los factores que favorecen el desarrollo de la metástasis se encuentran los siguientes:

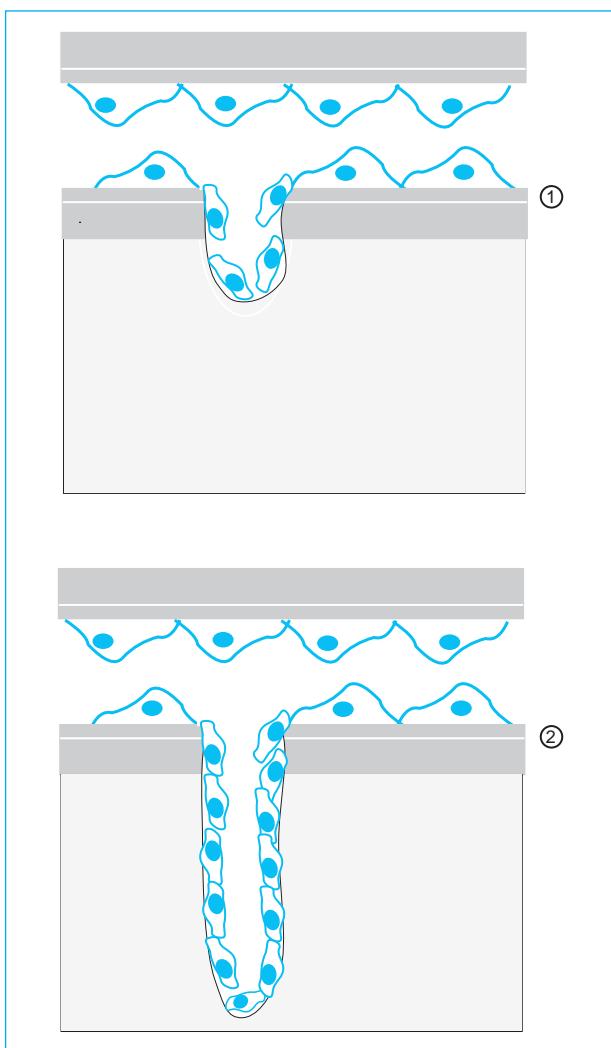


Figura 29-5. Angiogénesis y formación de un nuevo vaso. El proceso de angiogénesis consiste en el desarrollo de nuevos vasos sanguíneos, a partir del crecimiento y la ramificación de vasos preexistentes. 1) Estimulación de las células endoteliales con rotura de la membrana basal; 2) Expansión y elongación del nuevo vaso hacia la ubicación del tumor.

29.5 MÉTODOS TERAPÉUTICOS

El tratamiento de los procesos carcinogénicos presenta modalidades muy diferentes, aunque, por ahora, la mayor eficacia corresponde a la prevención. Puesto que, al menos, una de cada tres personas desarrollará cáncer en algún momento de su vida, la prevención es una aproximación obvia. La detección precoz del proceso, que permite la eliminación temprana de las células tumorales, debe ser otro de los objetivos terapéuticos. Cuando la neoplasia ha comenzado, se ha de recurrir a la cirugía, la quimioterapia, la radioterapia, la inmunoterapia o la terapia géni-

ca. Desde el punto de vista molecular, y por las enormes expectativas que ha suscitado, la *terapia génica*, asociada o no a la inmunoterapia, es, en la actualidad, el principal objetivo de los estudios sobre el tratamiento del cáncer.

En el pronóstico y el seguimiento del tratamiento convencional, ya se están utilizando las técnicas genético-moleculares. Así, por ejemplo, la evaluación del exceso de expresión del producto del gen *c-erbB-2* se utiliza como un indicador pronóstico del cáncer de mama. Asimismo, las variaciones en dicha expresión podrían ser un buen instrumento para evaluar la eficacia del tratamiento.

En la prevención y la detección, el objetivo principal consistiría en la identificación de mutaciones que predispusieran al cáncer. Este estudio debería ser obligado en aquellas personas con antecedentes familiares de neoplasias. Así, por ejemplo, la detección de mutaciones puntuales en el *k-ras* indica la posibilidad de desarrollo de un adenocarcinoma pulmonar; la detección de alteraciones en el gen *brca-1* determina la predisposición al carcinoma de mama; o la detección de la amplificación del *n-myc* señala la posible aparición de un neuroblastoma. En otros casos, las alteraciones afectan a genes supresores, como en el caso del *p53*, en el que una forma mutada se asocia a la aparición del *síndrome de Li-Fraumeni*, que predispone a la aparición de determinados tipos de cáncer. La existencia de alguna mutación hereditaria en un individuo debería alertarle para extremar su celo por adquirir hábitos de vida saludables en cuanto a la dieta, y a la eliminación del consumo de productos potencialmente peligrosos, como el tabaco, el alcohol, ciertos conservantes, etc.

Por lo que se refiere al tratamiento, existen distintas posibilidades, cada vez más numerosas, que se dirigen a interferir algunas de las etapas mencionadas del desarrollo tumoral. Como meros ejemplos citaremos algunas de tales estrategias:

- Síntesis y uso de antagonistas de los factores de crecimiento que ocupen sus lugares de unión, pero que carezcan de su actividad estimulante.
- Activación o desactivación de genes, mediante la técnica del «antisentido», con oligonucleótidos que poseen secuencias de ADN o ARN complementarias, lo que les permite reconocer determinados genes, regulando o impidiendo la transcripción o traducción de determinadas secuencias. Es el caso de la terapia con ARN interferente (Recuadro 22-2).
- Inserción de material genético, como el descrito en el punto siguiente, en las células tumorales, que conduzca a la muerte de las mismas.
- Desarrollo de vectores virales específicos para conseguir que los tumores sean susceptibles a los fármacos citotóxicos y que éstos puedan reconocer las células malignas.

- e. Utilización de fármacos que inhiban la angiogénesis (angiostatinas) (Recuadro 29-2).
- f. Producción de anticuerpos dirigidos contra proteínas onco génicas; por ejemplo, contra la proteína Her2, en el caso del carcinoma mamario.
- g. Desarrollo de inhibidores de proteínas onco génicas.
- h. Diseño de inmunotoxinas por acoplamiento de anticuerpos tumorales a toxinas letales para la célula, como la ricina y la toxina diftérica.
- i. Incremento de la inmunogenicidad tumoral por introducción de genes, como los de citoquinas o del complejo principal de histocompatibilidad.
- j. Introducción de genes supresores de tumores.

En conjunto, todos estos métodos terapéuticos, unidos a las mejoras en los métodos de diagnóstico precoz, han hecho que el cáncer deje de ser una enfermedad incurable, ya que en más del 50% de los casos se consiguen remisiones completas.

Recuadro 29-2. **ANGIOSTATINA Y CÁNCER**

Uno de los prometedores métodos terapéuticos para el tratamiento del cáncer lo constituye la inhibición del proceso de angiogénesis. No se trata de atacar a las células cancerosas directamente, sino de eliminar las vías de suministro de nutrientes, por medio de la inhibición de la vascularización.

Existen numerosas sustancias que participan en la regulación de la angiogénesis. Por una parte, los moduladores positivos, que estimulan el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos. Entre ellos, se encuentran el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), el factor β de crecimiento de fibroblastos (FGF β) o la angiogenina. Desde el punto de vista terapéutico, algunos de estos factores podrían ser utilizados para tratar afecciones en las que una nueva vasculatura ayude a su mejora, como en el caso de las isquemias o la cicatrización de heridas.

De otro lado, existen moduladores negativos, que frenan el crecimiento de los vasos o inducen la apoptosis de las células endoteliales. Estos factores pueden ser utilizados para el tratamiento de

enfermedades que precisen una disminución de la vascularización, como en el caso de la retinopatía proliferativa o la artritis reumatoide.

Se calcula que cada 100-1000 nuevas células tumorales necesitan una nueva célula endotelial para su mantenimiento. Por tanto, la eliminación de células endoteliales conllevaría un freno apreciable en el desarrollo del cáncer. Este método terapéutico presentaría la ventaja adicional de que, a diferencia de la célula cancerosa, la célula endotelial tiene muchas menos posibilidades de mutación y de hacerse resistente a los fármacos citostáticos.

Uno de los factores inhibidores que ha demostrado, en estudios *in vitro* e *in vivo*, una actividad antiangiogénica capaz de frenar el crecimiento tumoral y la metástasis, es la *angiostatina* (AGS). La AGS es un fragmento del plasminógeno, que se encuentra situado en la zona donde se encuentra el potencial proteolítico enzimático de dicho zimógeno. Otras porciones del plasminógeno, en zonas vecinas a la localización de la AGS, presentan también capacidad antiangiogénica, como es el caso de la denominada *kringle 5* (K5).

En el organismo, la producción fisiológica de AGS es realizada por metaloproteasas que actúan sobre el plasminógeno. En cuanto a la obtención de AGS para su utilización como agente terapéutico, se puede obtener, bien, a partir del fibrinógeno, por proteólisis parcial, o bien, sintetizada por técnicas de ingeniería genética.

En los ensayos clínicos que se realizan en la actualidad se está evaluando la capacidad antitumoral de la AGS en solitario o asociada a otros agentes y tratamientos. Entre estos agentes se encuentran otros antiangiogénicos, tales como la *endostatina*, que es un fragmento del colágeno tipo XVIII o el recientemente descrito, *endorepelina*, un fragmento del proteoglicano *perlecan*. En ocasiones, se combina la acción de la AGS con los tratamientos de radioterapia y quimioterapia, lo que permite la disminución de las dosis de AGS y de los agentes terapéuticos, disminuyendo los efectos secundarios y permitiendo un aumento en la frecuencia del tratamiento. En la gran mayoría de los estudios realizados, los resultados obtenidos son prometedores.

RESUMEN

- El cáncer es un conjunto de enfermedades en las que existe una proliferación incontrolada de células. Estas células se reproducen sin responder a los mecanismos de regulación y control e invaden regiones o zonas correspondientes a otras células.
- La carcinogénesis es un proceso que consta de diversas etapas: iniciación, promoción, progresión, invasión y metástasis.
- En las células cancerosas desaparecen la inhibición por contacto, la diferenciación y los procesos de senescencia celular. No se produce apoptosis, lo que conlleva immortalidad celular.
- Las células cancerosas sintetizan más lactato que las células normales (efecto Warburg) y se produce una disminución en el consumo de oxígeno (efecto Cabtree). Aumenta la neoglucogénesis y se llega a un estado de caquexia o atrofia metabólica del organismo.
- La respuesta inmunitaria celular es la más eficiente contra el desarrollo tumoral. No obstante, las células cancerosas diseñan estrategias variadas para evitar la acción del sistema inmunitario, en un proceso conocido como escape inmunitario.
- Los protooncogenes son genes celulares normales que, cuando se transforman en oncogenes, pueden producir la transformación neoplásica. Los productos de los oncogenes, las oncoproteínas, pueden actuar como factores de crecimiento, receptores, proteínas transmisoras o de señalización, y como factores de transcripción.
- Los genes supresores de tumor, oncosupresores o antioncogenes codifican proteínas que detienen la progresión tumoral. Para ello, frenan el ciclo celular, inducen la diferenciación terminal o disparan los mecanismos de senescencia, o apoptosis. La inactivación de estos genes está implicada en el desencadenamiento del proceso tumoral.
- La metástasis es el proceso de diseminación por vía circulatoria de células tumorales para producir un nuevo crecimiento (tumor secundario), en órganos o regiones distantes del tumor primario. Tanto para el desarrollo del tumor primario, como para las metástasis se necesita el desarrollo de nuevos vasos sanguíneos, proceso que se denomina angiogénesis.
- El tratamiento del cáncer permite diversos métodos terapéuticos. La prevención, la detección precoz, la cirugía, la quimioterapia, la radioterapia, la inmunoterapia y la terapia génica son los principales.
- La evaluación de la expresión de determinados oncogenes se utiliza para el pronóstico y seguimiento del proceso tumoral. La identificación de mutaciones en oncogenes y genes supresores se utiliza para determinar la predisposición al desarrollo de tumores.
- La inhibición de la angiogénesis, la producción de anticuerpos contra oncoproteínas, la inhibición de las mismas, el bloqueo de genes por secuencias complementarias (antisentido) la inserción de vectores que activen la apoptosis, son algunas de las estrategias terapéuticas que se intentan desarrollar para el tratamiento de los procesos tumorales.

EVALUACIÓN

1. (A). Los cánceres que proceden de células epiteliales se denominan:
 - a. Carcinomas.
 - b. Sarcomas.
 - c. Linfomas.
 - d. Leucemias.
 - e. Adenomas.

2. (A). Los ésteres de forbol son un tipo de compuestos implicados fundamentalmente en una de las etapas de la carcinogénesis. Señálala:
 - a. Iniciación.
 - b. Promoción.
 - c. Progresión.
 - d. Metástasis.
 - e. Angiogénesis.

3. (A). La elevada producción de lactato, característica de las células cancerosas, se conoce como:
 - a. Efecto Pasteur.
 - b. Efecto Cabtree.
 - c. Efecto Somogyi.
 - d. Efecto Warburg.
 - e. Efecto Bohr.

4. (A). El término *c-ras* se refiere a:
 - a. Un protooncogén.
 - b. Un oncogén.
 - c. Una oncoproteína.
 - d. Un antioncogén.
 - e. Un retrovirus.

5. (A). Señale cuál de las siguientes alteraciones génicas está implicada fundamentalmente en el linfoma de Burkitt:
 - a. Amplificación génica.
 - b. Poliploidía.
 - c. Pérdida alélica.
 - d. Inserción viral.
 - e. Translocación cromosómica.

6. (A). Entre los siguientes genes señale cuál es un gen supresor o antioncogén:
 - a. *ras*.
 - b. *abl*.
 - c. *p53*.
 - d. *erbB-2*.
 - e. *myc*.

7. (C). La disminución en la expresión de las cadherinas favorece el desarrollo de metástasis PORQUE las cadherinas son proteasas que degradan la membrana basal y permiten el movimiento de la célula tumoral.

a b c d e

8. (A). En el síndrome de Li-Fraumeni se encuentra alterado uno de los siguientes genes. Señálelo:
 - a. *ras*.
 - b. *abl*.
 - c. *p53*.
 - d. *erbB-2*.
 - e. *myc*.

9. (A). El producto de uno de los siguientes oncogenes no actúa como factor de transcripción. Señálelo:
 - a. *jun*.
 - b. *fos*.
 - c. *erbA*.
 - d. *myc*.
 - e. *ras*.

10. (A). El producto de uno de los siguientes oncogenes presenta actividad *tirosina quinasa*. Señálelo:
 - a. *erbA*.
 - b. *erbB*.
 - c. *fos*.
 - d. *jun*.
 - e. *sis*.

BIBLIOGRAFÍA

- Ciccarelli FD, Doerks T, Bork P: AMOP, a protein module alternatively spliced in cancer cells. *TiBS* 2002; 27: 113-115.
- Crespo P, Gutkind S, Bustelo XR: El oncogén vav. *Inv y C* 1998; julio: 62-71.
- Gibbs WW: Las raíces del cáncer. *Inv y C* 2003; septiembre: 48-57.
- Henneke G, Friedrich-Heineken E, Hübscher U: Flap endonuclease 1: a novel tumour suppresser protein. *TiBS* 2003; 28: 384-390.
- Izquierdo M: *Biología molecular del cáncer*. Ed. Síntesis. 1995.
- Jain RK, Carmeliet PF: Angiogénesis terapéutica. *Inv y C* 2002; febrero: 4-11.
- Lu KP: Pinning down cell signaling, cancer and Alzheimer's disease. *TiBS* 2004; 29: 200-209.
- Lane N: Porfirinas. *Inv y C* 2003; marzo: 6-14.
- López-Otín C: Proteasas y cáncer. *Inv y C* 2000; mayo: 68-75.
- Mayo LD, Donner DB: The PTEN, Mdm2, p53 tumor suppressor-oncoprotein network. *TiBS* 2002; 27: 462-467.
- Perucho M: Cáncer del fenotipo mutador de microsatélites. *Inv y C* 1998; junio: 46-55.
- Szeberenyi J: The Regulation of the Function of the Tumor Suppressor Protein p53. *Biochem Mol Biol Educ* 2003; 31: 435-436.

PARTE III

EL NIVEL MOLECULAR EN BIOMEDICINA

- Capítulo 30:** Bioquímica de la sangre
- Capítulo 31:** La respuesta inmunitaria
- Capítulo 32:** Fenómenos contráctiles, contracción muscular y actividad física
- Capítulo 33:** Neurotransmisión y sistemas sensoriales
- Capítulo 34:** Bioquímica del tejido conjuntivo.
Aplicaciones podológicas
- Capítulo 35:** Tejidos calcificados
- Capítulo 36:** Bioquímica del medio bucodental
- Capítulo 37:** Bioquímica analítica
- Capítulo 38:** Aspectos biológicos y moleculares del envejecimiento
- Capítulo 39:** Origen de la vida y evolución bioquímica

30.1 TEJIDO SANGUÍNEO

La sangre constituye un sistema de transporte muy eficaz de gases, de sustancias nutritivas y de productos de desecho en el interior del organismo. La sangre conecta los distintos tejidos y permite que puedan existir una perfecta coordinación e integración del metabolismo. Pero, a su vez, la sangre puede ser considerada como un tejido en el que se agrupan diferentes tipos celulares y que desempeña diversas funciones homeostáticas (pH, temperatura, tonicidad, etc.) y defensivas.

La sangre es un líquido viscoso de color rojo que representa aproximadamente el 10% del peso corporal. Su volumen total (volemia) en una persona de peso medio oscila en torno a los 5.5 litros. Los elementos formes, o células, presentes en la sangre son los *eritrocitos, hematíes o glóbulos rojos*; los *leucocitos o góbulos blancos*; y las *plaquetas o trombocitos*. Además, en la sangre existe una proporción elevada de proteínas de diversa naturaleza y función que reciben el nombre de *proteínas plasmáticas*.

La principal función de los *eritrocitos*, por la presencia de *hemoglobina* en su interior, consiste en el transporte de oxígeno desde los pulmones a los tejidos, así como en el de CO₂, siguiendo el trayecto inverso desde los tejidos a los pulmones. Los eritrocitos se producen en la médula ósea, a partir de las *células madre hematopoyéticas pluripotenciales*. A partir de ellas se origina el *proeritroblasto*; después, el *eritroblasto*; a continuación, el *reticulocito*, para, finalmente, originar el *eritrocito maduro*. La hormona *eritropoyetina* es la responsable de la estimulación de la síntesis de eritrocitos. Los valores normales de eritrocitos en los hombres oscilan entre 4.9-5.5 millones por mm³. En las mujeres, el intervalo se extiende entre 4.4-5.0 millones por mm³. En cuanto a la hemoglobina, el valor medio en hombres es de 16 g/dL, mientras que en las mujeres es de 14 g/dL.

La principal función de los *leucocitos* es la defensa y protección del organismo frente a agentes infecciosos o tóxicos. En la sangre existen cinco tipos fundamentales de leucocitos: *polimorfonucleares neutrófilos, polimorfonucleares eosinófilos, polimorfonucleares basófilos* (por su aspecto, a los integrantes de estos tres grupos se les denomina genéricamente

granulocitos), *monocitos* y *linfocitos* (véase el Cap. 31). Existen, además, las denominadas *células plasmáticas* que, junto a los linfocitos, están implicadas en la respuesta inmunitaria. Los granulocitos, monocitos y algunos linfocitos se producen en la médula ósea, mientras que la mayor parte de los linfocitos y las células plasmáticas son sintetizados en el tejido linfático. Los granulocitos y monocitos se originan a partir de los *mieloblastos*, constituyendo la línea *mielocítica*, mientras que los linfocitos se originan a partir de los *linfoblastos*, formando la línea linfocítica. Por término medio, un ser humano adulto tiene unos 7000 leucocitos por mm³, con los siguientes porcentajes medios: neutrófilos (62.0%), eosinófilos (2.3%), basófilos (0.4%), monocitos (5.3%), linfocitos (30.0%).

La función principal de las *plaquetas* es su intervención esencial en el proceso de coagulación sanguínea. Las plaquetas se originan en la médula ósea por fragmentación de los *megacariocitos*, células de gran tamaño de la línea mielocítica. Los valores normales de plaquetas oscilan, por término medio, entre 150 000 y 300 000 por mm³.

30.2 PROTEÍNAS PLASMÁTICAS

Existen diferencias entre los términos plasma y suero, fracciones líquidas obtenidas a partir de la sangre. El *plasma* está constituido por la sangre exenta de elementos formes, o células. El *suero* está formado por la sangre exenta de células, o elementos formes, y de fibrinógeno, proteína implicada en la formación del coágulo, en el proceso de coagulación sanguínea.

Las proteínas existentes en el plasma reciben el nombre de *proteínas plasmáticas* (aproximadamente 300). Deben cumplir los siguientes requisitos: *a)* ser secretadas activamente a la sangre; *b)* no derivar de lesiones o alteraciones de tejidos o células; *c)* ejercer su función fundamental en el sistema vascular y, *d)* presentar mayor concentración en el plasma que en cualquier otro tejido.

Generalmente, salvo las inmunoglobulinas, las proteínas plasmáticas son sintetizadas en el retículo endoplásmico de los hepatocitos. Su concentración es muy variable en cada

caso, pues oscilan desde los 0.01 g/100 mL hasta los 5 g/100 mL, siendo el contenido total de proteínas en el plasma de 6-8 g/100 mL.

30.2.1 Funciones y clasificación

Entre las funciones generales de estas proteínas se encuentran:

1. Mantenimiento de la presión oncótica de la sangre.
2. Participación en el equilibrio electrolítico.
3. Función en el mantenimiento del equilibrio ácido-base sanguíneo.
4. Intervención en el proceso nutritivo, como fuente de nitrógeno y aminoácidos para tejidos.
5. Transporte de ligandos, como fármacos, iones metálicos, hormonas, ácidos grasos, etcétera.
6. Papel en los mecanismos de defensa.
7. Desarrollo de los procesos de coagulación.

Normalmente, la clasificación de las proteínas plasmáticas suele hacerse en función de su carga eléctrica y, por tanto, de su movilidad electroforética libre. Tras la electroforesis y, según su movilidad, las proteínas plasmáticas quedan agrupadas de acuerdo con un perfil característico y son cuantificadas. La representación de esta separación electroforética de las proteínas plasmáticas se denomina *proteinograma* (Fig. 30-1).

Así, de acuerdo con estos criterios, las proteínas plasmáticas pueden agruparse en: *albúmina* (constituye el 55% del total de las proteínas plasmáticas) (3-5 g/100 mL); α_1 -globulinas (5%) (0.3-0.6); α_2 -globulinas (9%) (0.4-0.9); β -globulinas (13%) (0.6-1.1); γ -globulinas (11%) (0.7-1.5), y fibrinógeno (7%) (0.2-0.4). Estos valores son orientativos y pueden variar dentro de un margen de normalidad, expresado en el segundo paréntesis, en forma de g/100 mL.

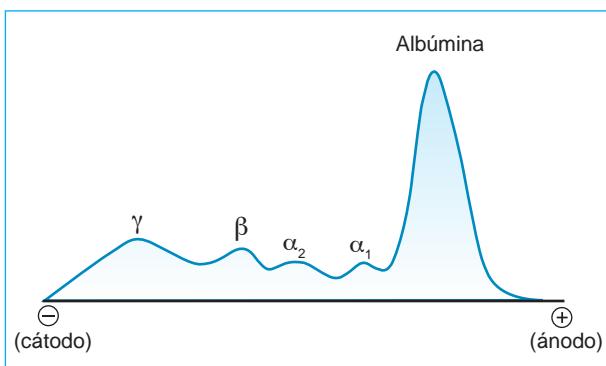


Figura 30-1. Proteinograma obtenido mediante separación electroforética. Las proteínas plasmáticas quedan agrupadas en sus distintos tipos, según la movilidad electroforética.

La *albúmina*, la más abundante de todas, se sintetiza en forma de preproalbúmina en el retículo endoplasmático de los hepatocitos. Como transportador de sustancias presenta una gran versatilidad, pudiendo hacerlo con sustancias aniónicas y catiónicas. Entre ellas, destacan la bilirrubina (que es poco hidrosoluble), medicamentos (como la aspirina), aminoácidos (como el triptófano) y algunas hormonas (como las tiroideas y esteroideas). Una segunda función importante, que viene determinada por su abundancia y su carácter coloidal, consiste en el mantenimiento del volumen vascular. A ella se debe el 80% de la presión osmótica del plasma, que aumenta por el efecto Gibbs-Donnan (presión oncótica), al existir unas 17 cargas negativas en su estructura, a pH 7.4 plasmático fisiológico. La tercera de las funciones de la albúmina es la nutritiva, ya que actúa como reserva y fuente de aminoácidos para los tejidos.

Entre las pertenecientes a los restantes grupos, se pueden destacar:

- α_1 -globulinas: α_1 -glicoproteína ácida (α_1S); α_1 -antitripsina (α_1AT); α_1 -fetoglobulina (α_1F).
- α_2 -globulinas: haptoglobina; α_2 -macroglobulina (α_2M); ceruloplasmina.
- β -globulinas: transferrina; β_2 -microglobulina; proteína C reactiva.
- γ -globulinas: inmunoglobulinas (IgG, IgM, IgA, IgD, IgE).

30.2.2 Alteraciones patológicas

El estudio de los proteinogramas y la determinación de la concentración de proteínas en plasma nos permite saber si las proteínas plasmáticas se encuentran dentro del intervalo normal, que supone un estado de salud adecuado, o si, por el contrario, existe un aumento o disminución que pueda indicar la existencia de un proceso patológico. A continuación, se citan algunas de las alteraciones más importantes:

- *Hipoproteinemia*: disminución de todas las fracciones proteicas. Debida a malnutrición o pérdida masiva de proteínas (proteinuria) (véase el Recuadro 30-1).
- *Hipoalbuminemia*: disminución de la concentración de albúmina. Originada por carencias alimentarias, cirrosis hepática o síndrome nefrótico. Al disminuir la presión oncótica del plasma, parte del agua plasmática debe salir al medio intersticial, lo que da lugar a la aparición de edemas.
- *Proteínas de fase aguda*. En los procesos inflamatorios originados como resultado de un daño celular, se produce un elevado número de modificaciones fisiológicas, entre las que destaca el incremento en la sín-

tesis de un grupo de proteínas, que se conocen con el nombre de proteínas de fase aguda. Se han descrito unas 30, que suelen clasificarse en función de su tiempo de respuesta. Algunas de ellas se comentan a continuación:

- *Proteína C reactiva*. Es una proteína de respuesta rápida (grupo I), que inicia su incremento entre 6 y 10 horas tras el daño celular, y cuya concentración puede llegar a aumentar hasta 1000 veces. La medida de proteína C reactiva en plasma se utiliza para el diagnóstico y seguimiento de los procesos infecciosos e inflamatorios, tanto agudos como crónicos.
- α_1 -*antitripsina* es una proteína de fase aguda de respuesta mediana (grupo II), que inicia su incremento sobre las 24 horas tras el daño celular. Además, se encuentra aumentada en artritis reumatoide y enfermedades del tejido conjuntivo. Aparece disminuida en la hepatitis neonatal y el enfisema.

- La *haptoglobina* es una proteína de fase aguda de respuesta mediana (grupo II), que inicia su incremento sobre las 24 horas tras el daño celular. Además, se encuentra aumentada en necrosis tisulares e ictericias posthepáticas. Aparece disminuida en la hemólisis intravascular.
- La *ceruloplasmina (ferroxidasa)* es una proteína de fase aguda de respuesta lenta (grupo III), que comienza su incremento entre las 48 y 72 horas tras el daño celular y puede llegar a aumentar hasta el 50 % de sus valores normales. Se encuentra anormalmente baja en la enfermedad de Wilson (acumulación de cobre en el hígado).

Otras proteínas plasmáticas de interés son la α_1 -*fetoglobulina*, aumentada en ciertos tipos de tumores; la *transferrina*, que aumenta en las anemias por falta de hierro y disminuye en enfermedades hepáticas y neoplasias malignas; la *hemopexina*, disminuida en la hemólisis intravascular y en las hemorragias internas.

Recuadro 30-1. KWASHIORKOR

El *kwashiorkor* es una enfermedad originada por una malnutrición, que se produce debido a una ingesta insuficiente, inadecuada y prolongada de proteínas. Fue descrita por vez primera en 1933 por Cicely Williams, en el territorio africano de Costa de Oro (la actual Ghana). Utilizó este término para nombrarla porque era el que empleaban las madres indígenas para referirse a la enfermedad. En su lenguaje significa «enfermedad que adquiere el primer niño cuando nace el segundo». En los siguientes años, otros autores describieron el mismo síndrome en otros países y le dieron distintos nombres: *pelagra infantil*, *sugar baby*, *síndrome carencial*, entre otros.

Se suele diferenciar el *kwashiorkor* de otras enfermedades como el *marasmo*, en el que además de una ingesta insuficiente de proteínas existe una ingesta insuficiente de calorías (energía), aunque en muchas ocasiones se engloba a todos los procesos de malnutrición bajo el término común de *malnutrición proteico-calórica o síndrome pluricarencial*.

El *kwashiorkor* aparece cuando el niño es destetado y privado, por tanto,

del contenido proteico de la leche materna. A partir de ese momento, el niño ingiere una dieta proteica inadecuada, deficitaria en determinados aminoácidos esenciales. La simple ausencia de uno de ellos conlleva la imposibilidad de la síntesis de las proteínas funcionales que lo contienen (casi todas las proteínas humanas contienen los 20 aminoácidos proteicos). Así, en muchos casos, tras el destete, el niño es alimentado con una dieta basada en vegetales, como el maíz, que es deficitario en lisina y triptófano. Junto al déficit en determinados aminoácidos, las dietas vegetales originan otros problemas, ya que la mayor parte de los productos vegetales tienen poca cantidad de proteína y, además, muchas proteínas vegetales no pueden ser digeridas por completo. Todo ello determina que aparezca un cuadro grave de hipoproteinemia con una sintomatología característica.

La insuficiente presencia de proteínas en la sangre origina la disminución de la presión oncótica y da lugar a un edema generalizado, debido a la extravasación de líquido hacia los tejidos. La característica protrusión abdominal de los niños afectados se produce por una combinación de retención de líquidos,

musculatura debilitada y hepatomegalia. El edema conduce, además, a una falsa apariencia rolliza del individuo.

El cabello es seco y de color rojizo y la piel puede presentar hipopigmentación, enrojecimiento y dermatitis. Se produce retraso en el crecimiento, debilidad, diarreas, apatía, letargia, disminución y retraso del desarrollo intelectual.

La disminución en la síntesis de proteínas, producida por la disminución en la ingestión de nitrógeno y de aminoácidos esenciales es responsable de que las células del revestimiento intestinal no puedan sintetizar la cantidad adecuada de enzimas digestivas. Por ello, cuando se ingiere alimento, es digerido de forma incompleta y se absorbe defecuosamente.

Otro problema grave que acompaña al *kwashiorkor* es la disminución de la efectividad del sistema inmunitario. La capacidad para luchar contra las infecciones está muy reducida. Los niños son inmunodeficientes y suelen fallecer en la infancia a causa de infecciones generalizadas. La síntesis de anticuerpos y de interferón es defectuosa y el número de linfocitos T disminuye, por lo que las respuestas inmunitarias celular y humoral se encuentran muy reducidas.

30.3 HEMOGLOBINA

La *hemoglobina* es una proteína que pertenece al grupo de las *hemoproteínas* y que, por tanto, está constituida por un grupo prostético, el *hemo*, y un componente proteico o apoproteína, la *globina*. El grupo hemo de las hemoglobinas está formado por un anillo tetrapirrólico (*protoporfirina*), con un átomo de hierro unido al mismo (Fig. 30-2). La capacidad de unión al oxígeno que presenta la hemoglobina se debe a la existencia del grupo hemo. El átomo de hierro de este grupo puede encontrarse en estado de oxidación (II), en el que es posible unir oxígeno, recibiendo entonces la hemoglobina el nombre de *ferrohemoglobina*. Si el átomo se encuentra en forma férrica (estado de oxidación III), la hemoglobina recibe el nombre de *ferrihemoglobina* o *metahemoglobina*, y no puede unir oxígeno.

La estructura proteica de la hemoglobina se compone de cuatro monómeros, iguales dos a dos, unidos por interacciones no covalentes. Cada uno de ellos contiene un grupo hemo que permite la unión de una molécula de oxígeno y una cadena polipeptídica.

Existen diferentes tipos de hemoglobina, dependiendo del tipo de cadenas polipeptídicas que la forman. Así, la más abundante en el adulto es la *hemoglobina A*, que está constituida por dos cadenas α y dos cadenas β (Fig. 30-3). Aproximadamente, un 2% del total de hemoglobina en el adulto es del tipo A_2 , con dos cadenas α y dos δ . Existen, además, cantidades pequeñas de otras especies de hemoglobina A, modificadas por glicosilación con monosacáridos. Entre ellas se encuentra la *hemoglobina A_{1c}*, con glucosa unida (su determinación en la sangre de un individuo diabético

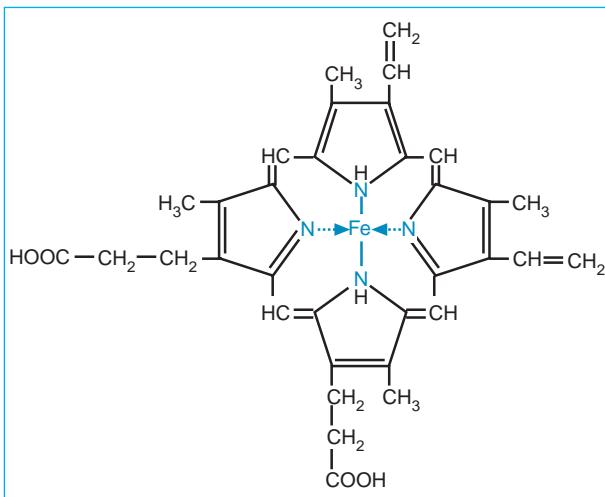


Figura 30-2. Estructura del grupo hemo. El átomo de hierro en estado de oxidación II se encuentra unido al anillo tetrapirrólico de la protoporfirina.

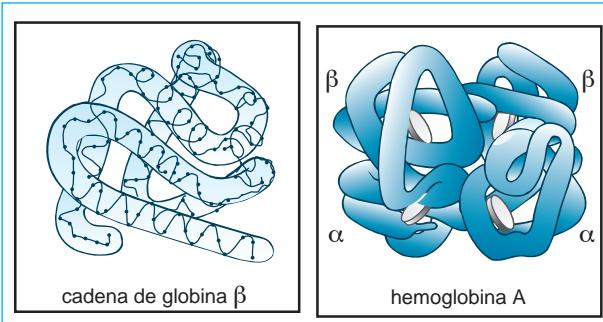


Figura 30-3. Molécula tetramérica de la hemoglobina A con dos subunidades α y dos subunidades β , cada una de ellas con un grupo hemo.

tico permite valorar el control de la enfermedad durante las semanas anteriores).

En el feto, la situación es diferente. Tras la concepción, el feto sintetiza cadenas ζ y ϵ , que paulatinamente son reemplazadas por α , β , γ y δ durante la vida fetal. En cualquier caso, la hemoglobina mayoritaria del feto es la *hemoglobina F*, que está constituida por dos cadenas α y dos γ . La hemoglobina F posee mayor afinidad por el oxígeno que la hemoglobina A, por lo que el feto puede tomar con mayor eficacia oxígeno de la sangre materna.

En cuanto a su composición, las cadenas α y ζ contienen 141 aminoácidos, mientras que las β , γ y δ contienen 146.

El grupo hemo se halla situado en una cavidad apolar de la cadena polipeptídica. El átomo de hierro (Fe^{2+}) se encuentra ligado a los cuatro nitrógenos de la protoporfirina; por otra parte, se encuentra unido de forma covalente a un residuo histidina de la cadena, quedando una sexta posición de enlace libre para la unión de la molécula de oxígeno.

30.3.1 Cooperatividad en la unión de oxígeno

La hemoglobina es una proteína alostérica de la que cada molécula puede unir cuatro moléculas de oxígeno (O_2). La unión de la primera de las moléculas de oxígeno facilita la unión de las siguientes a la misma molécula de hemoglobina. En ello consiste el fenómeno conocido como *cooperatividad*. La hemoglobina con el oxígeno ligado recibe el nombre de *oxihemoglobina*.

Esta unión de oxígeno es totalmente reversible; depende de la concentración o presión parcial de oxígeno existente en el entorno de la molécula de hemoglobina. A mayor presión parcial, mayor será el grado de saturación por oxígeno (p. ej., en los alveolos pulmonares); cuando la presión disminuye (p. ej., en los tejidos), el oxígeno se libera. Al igual que ocurre con la unión de las moléculas de oxígeno, la liberación del

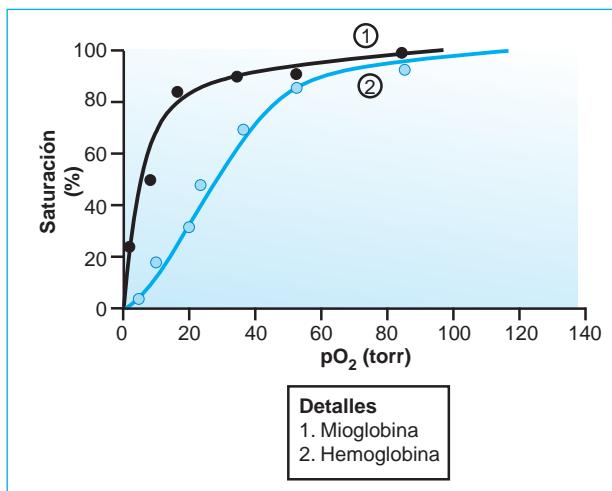


Figura 30-4. Curvas de saturación con oxígeno de la mioglobina y de la hemoglobina. El perfil sigmoidal de la curva de saturación de la hemoglobina se debe a la cooperatividad de esta proteína en la carga y descarga de oxígeno. El perfil hiperbólico para la mioglobina indica la ausencia de cooperatividad.

mismo también presenta cooperatividad; es decir, la liberación de una de las moléculas de oxígeno facilita la liberación del resto de las moléculas.

Si representamos el *porcentaje global de sitios saturados* por el oxígeno de la hemoglobina (Y), en función de la *presión parcial de oxígeno* (pO_2), podemos observar que la *curva de disociación o saturación* adopta una forma sigmoidal que refleja el fenómeno de cooperatividad que hemos comentado (Fig. 30-4).

Esta cooperatividad puede ser cuantificada haciendo algunas consideraciones. De los datos de oxigenación de la hemoglobina se infiere la siguiente ecuación:

$$Y = \frac{[pO_2]^n}{[P_{50}] + [pO_2]^n}$$

en la que, n es el *grado de cooperatividad* o *coeficiente de Hill*, y P_{50} es la concentración de oxígeno para la que se cumple que, $Y = 0.5$; es decir, la concentración para la que se encuentran saturados el 50% de los lugares saturables.

Esta misma expresión se puede escribir en la forma más conocida de *ecuación de Hill*:

$$\log \frac{Y}{1-Y} = n \log pO_2 - n \log P_{50}$$

La representación gráfica de $(\log \frac{Y}{1-Y})$ frente a pO_2 (gráfica de Hill) resulta una recta, en la que la pendiente es n , *coeficiente de Hill*, o *grado de cooperatividad*, que es tanto

mayor cuanto mayor sea la cooperatividad. Así, la mioglobina (que se comentará más adelante), otra hemoproteína, pero que no presenta cooperatividad, tiene un valor de $n = 1$; mientras que la hemoglobina presenta un valor de 2.8.

La unión y liberación cooperativas del oxígeno hacen de la hemoglobina un transportador de oxígeno bastante eficaz. Si se observa la Figura 30-4, se puede apreciar, en el perfil sigmoidal, que en los alveolos pulmonares (con una presión parcial de oxígeno de 100 torr o mm Hg) existe un nivel de saturación del 98%, mientras que en el músculo activo (presión parcial de oxígeno de 20 torr) la saturación es del 32%. Esto permite una descarga de oxígeno del 66%. Si se compara esta curva con la de la mioglobina, que no presenta cooperatividad y, por tanto, ofrece un perfil hiperbólico, se observa que su eficacia en la descarga de oxígeno sería bastante menor. De hecho, la P_{50} tiene un valor de 26 torr para la hemoglobina y sólo de 1 para la mioglobina.

La razón de que se produzca este efecto de cooperatividad radica en la interacción entre los monómeros de la molécula, lo que se denomina *interacción hemo-hemo*. La entrada de una molécula de oxígeno conlleva un cambio de conformación de la cadena polipeptídica, que se transmite a las otras subunidades. Así, la estructura cuaternaria de la desoxihemoglobina recibe el nombre de forma T, o *forma tensa*, mientras que la de la oxihemoglobina se denomina forma R, o *forma relajada*.

30.3.2 Factores que afectan a la liberación de oxígeno

1. *Presencia del metabolito 2,3-bisfosfoglicerato (BPG)*. Se ha demostrado que la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno en el interior de las células sanguíneas es menor que la de la hemoglobina libre. Esto se debe a la presencia del BPG, que se une a la desoxihemoglobina, dificultando la unión de oxígeno, por estabilización de su estructura cuaternaria. Este metabolito se sintetiza en una vía derivada de la glicólisis. Su concentración molar en el interior del eritrocito es similar a la de la hemoglobina. La P_{50} en ausencia de BPG es de 1 torr, similar a la de la mioglobina, mientras que en su presencia llega a ser de 26 (aumenta el carácter sigmoidal de la curva de saturación).

El BPG es también responsable de la menor afinidad que la hemoglobina del adulto (A) presenta por el oxígeno, con respecto a la hemoglobina fetal (F). La F se une al BPG con menos afinidad que la A y, por tanto, fija más oxígeno. De esta manera, se facilita la cesión de oxígeno desde la circulación materna a la del feto.

En procesos de disfunciones respiratorias (asma, enfisema, etc.) que cursan con hipoxia o en situaciones de adaptación a la altura, donde la presión parcial de oxígeno disminuye, existe un aumento en la concentración de BPG, lo que

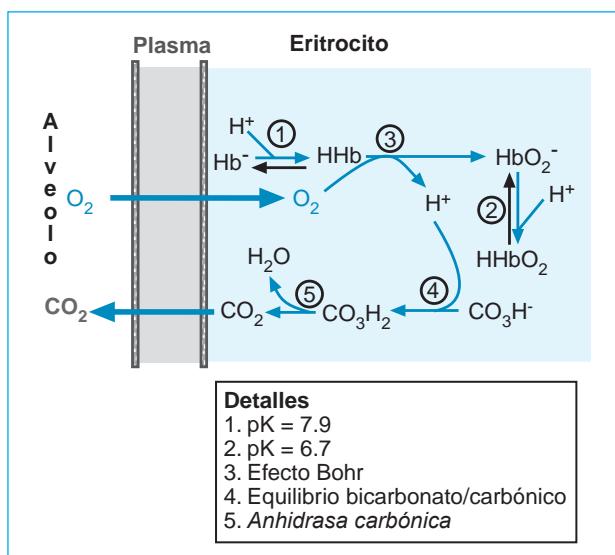


Figura 30-5. Equilibrio ácido-base de la hemoglobina y su relación con el intercambio de gases en los alveolos y con el efecto Bohr.

facilita la liberación de oxígeno, aunque la cantidad que se pueda transportar disminuya. Además, como consecuencia de la hipoxia, el organismo se adapta aumentando la eritropoyesis y, por tanto, el número de eritrocitos (policitemia).

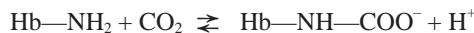
2. *Efecto Bohr.* El aumento de la acidez produce un incremento en la liberación de oxígeno. Es decir, la disminución de pH produce un aumento en el carácter sigmaideo de la curva de disociación del oxígeno. A su vez, un aumento de la concentración de CO_2 origina la liberación de protones y, por tanto, se incrementa la liberación de oxígeno.

En la Figura 30-5 se muestran las ecuaciones correspondientes al sistema amortiguador hemoglobinato/hemoglobina (1) y oxihemoglobinato/oxihemoglobina (2), así como la interconversión entre hemoglobina y oxihemoglobina (3), con la participación del oxígeno y de protones.

En los alveolos pulmonares, con alta concentración de oxígeno, se favorece la conversión de hemoglobina en oxihemoglobínato, y la liberación de protones hace que, mediante la anhidrasa carbónica, se favorezca la liberación de dióxido de carbono (reacciones 4 y 5). Por el contrario, en los tejidos, como consecuencia del metabolismo, se produce dióxido de carbono y otros ácidos orgánicos (disminución del pH); la transformación se realiza en sentido opuesto, es decir, desde oxihemoglobínato a hemoglobina, y ello favorece la liberación de oxígeno, así como un fortalecimiento del sistema amortiguador hemoglobina ($pK 7.9$), en detrimento del sistema de la oxihemoglobina ($pK 6.7$). Todo ello permite que globalmente no se produzcan grandes cambios de pH,

y que tengan lugar los correspondientes intercambios oxígeno/dióxido de carbono en los tejidos y los alveolos pulmonares. Estas circunstancias fueron estudiadas por el danés Christian Bohr a principios de siglo y constituyen el denominado efecto Bohr.

Además, la unión del dióxido de carbono disminuye la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, debido a que el dióxido de carbono puede reaccionar con los grupos amino terminales de las cadenas de hemoglobina (principalmente, las α), formando carbamatos y originando la *carbaminohemoglobina*, de acuerdo con la ecuación:



La producción de estos carbamatos facilita el transporte de CO_2 desde los tejidos a los pulmones. Por otra parte, los protones liberados contribuyen al efecto Bohr y además, se estabiliza la forma tensa (T) de la hemoglobina, con lo que disminuye la afinidad de dicha proteína por el oxígeno.

Por otra parte, la unión del oxígeno a la hemoglobina favorece la liberación de CO_2 en los alveolos pulmonares. En los capilares de los tejidos, se favorece la captación de CO_2 por la hemoglobina, debido a la liberación de oxígeno de la misma. Estos hechos constituyen el denominado efecto Haldane.

3. *La temperatura.* El aumento de temperatura implica un aumento en la liberación de oxígeno. Esto es importante en cuadros que cursan con fiebre, en los que al aumentar el metabolismo celular, el requerimiento de oxígeno se hace mayor.

4. *El monóxido de carbono (CO).* Este conocido tóxico es un gas que se une al átomo de hierro de la hemoglobina con una afinidad 210 veces superior a la del oxígeno, dando lugar a la *carboxihemoglobina*. La presencia de CO en concentraciones mínimas (0.1%) puede producir la muerte, al impedir la unión y posterior liberación de oxígeno en los tejidos (véase Recuadro 30-2).

30.3.3 Diferencias con la mioglobina

Ya se han mencionado anteriormente los distintos valores de P_{50} que ambas proteínas presentan, así como alguna otra característica diferenciadora. Existen, además, otras diferencias importantes:

- a. La *mioglobina* se localiza en el músculo.
- b. Actúa como reserva suplementaria de oxígeno, que se libera en casos de necesidad (es el caso de los mamíferos marinos, cuyos músculos tienen mayor cantidad de mioglobina que los terrestres, lo que les permite obtener oxígeno adicional en los procesos de inmersión).

Recuadro 30-2.**MONÓXIDO DE CARBONO Y HEMOGLOBINA**

El monóxido de carbono (CO) es un gas que se origina en las combustiones incompletas de carbón, butano, propano, gasolina y gasóleo. Es un gas tóxico que se combina con la ferrohemoglobina, bloqueando el transporte de oxígeno. El CO se une al grupo hemo libre (en ausencia de globina) con una fuerza 25 000 veces superior a la de la unión del O₂. Sin embargo, la afinidad de la hemoglobina por el CO es sólo 200 veces superior a la que presenta por el O₂. La razón para esta disminución de afinidad es estereoquímica. La presencia de un residuo de histidina (distal) en la globina obliga a la molécula de CO a

adoptar una estructura forzada en su unión a la hemoglobina, por lo que el enlace se halla dificultado.

Este impedimento estérico ha permitido a la hemoglobina (y a otras hemoproteínas) discriminar, favoreciendo la unión de O₂ frente a la de CO. Si no existiera este impedimento, el CO endógeno fisiológico (procedente del catabolismo del grupo hemo) sería suficiente para ocasionar la muerte. En condiciones normales, este CO endógeno sólo bloquea aproximadamente un 1% de los sitios de unión, lo que no supone mayor problema. En los fumadores (con niveles de saturación de hemoglobina por CO del 4-8%), el gas resultaría letal de no existir el mecanismo citado.

Además de la unión competitiva del CO, que reduce la cantidad de O₂

transportado, la pérdida de la cooperatividad implica que el O₂ unido no se libere con la habitual facilidad en los tejidos. Así, con niveles de saturación por CO del 10-20%, se origina una apreciable anoxia tisular que ocasiona insuficiencia respiratoria con el esfuerzo. Con saturaciones del 30-50% se producen cefaleas, náuseas, confusión y desvanecimiento con el esfuerzo. Las saturaciones superiores al 80% son letales.

El diagnóstico de laboratorio se realiza por determinación de carboxihemoglobina, utilizando un método espectrofotométrico. El tratamiento consiste en el suministro de O₂ al paciente; en ese caso, el CO se disocia rápidamente de la hemoglobina y se elimina por los pulmones.

- c. Facilita el movimiento de oxígeno dentro del músculo.
- d. Es un monómero. Presenta una sola cadena polipeptídica con un único grupo hemo, por lo que la mioglobina no puede presentar el fenómeno de cooperatividad, y su curva de disociación-saturación es hiperbólica y no sigmoidea (su coeficiente de Hill es 1.0; mientras que el de la hemoglobina es de 2.8). Ello la convierte en una proteína poco efectiva para el transporte y la liberación de oxígeno desde los alveolos pulmonares hacia los tejidos.

30.4 GASES EN LA SANGRE

Una de las funciones fundamentales de la sangre es la de facilitar el intercambio gaseoso entre las células y el exterior del organismo. En lo que respecta al *oxígeno*, se trata de un gas poco soluble en agua (5mL/L), por lo que se transporta fundamentalmente unido a la hemoglobina.

Por el contrario, el *dióxido de carbono* es más soluble y se transporta de tres formas distintas:

- a. Disuelto en el plasma y los eritrocitos (6%).
- b. En forma de bicarbonato (HCO₃⁻) (70%).
- c. Unido a la hemoglobina (24%).

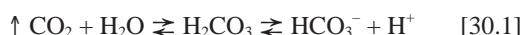
Tanto el oxígeno, como el dióxido de carbono, deben atravesar una serie de membranas para llegar a las estructuras a las que van dirigidos. Así, han de cruzar el epitelio alveolar, el

endotelio capilar y la membrana del eritrocito. Todos estos transportes se producen por *difusión*, migrando desde los compartimentos con mayor presión parcial hacia los de menor presión parcial del gas correspondiente.

De esta forma, en lo que se refiere al oxígeno, en el alveolo pulmonar, la presión parcial se encuentra en torno a los 105 torr, y en el interior del eritrocito, en la circulación venosa en torno a los 40 (difusión hacia el eritrocito). En los tejidos, la presión en el interior del eritrocito en la circulación arterial, es de 95 torr, mientras que en las células tisulares su valor oscila entre 5 y 40, con un valor promedio de 23 (difusión hacia los tejidos).

En el caso del dióxido de carbono, la situación es la opuesta: en el alveolo, la presión es de 40 torr, mientras que en el eritrocito de la sangre venosa es de 46 (difusión hacia el alveolo). En los tejidos, la presión en las células es de 60 torr, mientras que en el interior del eritrocito en la circulación venosa, es de unos 40 (difusión hacia el eritrocito). En todos los casos, dada la mayor solubilidad del dióxido de carbono, la difusión de este gas es superior a la del oxígeno. Por ello, las diferencias de presión necesarias para la difusión del dióxido de carbono son menores que las necesitadas para la difusión del oxígeno.

El transporte del dióxido de carbono se basa en el equilibrio, ya citado anteriormente, de dicho gas con el bicarbonato:



Los eritrocitos contienen una enzima característica, la *anhidrasa carbónica*, que cataliza la reacción y hace que el equi-

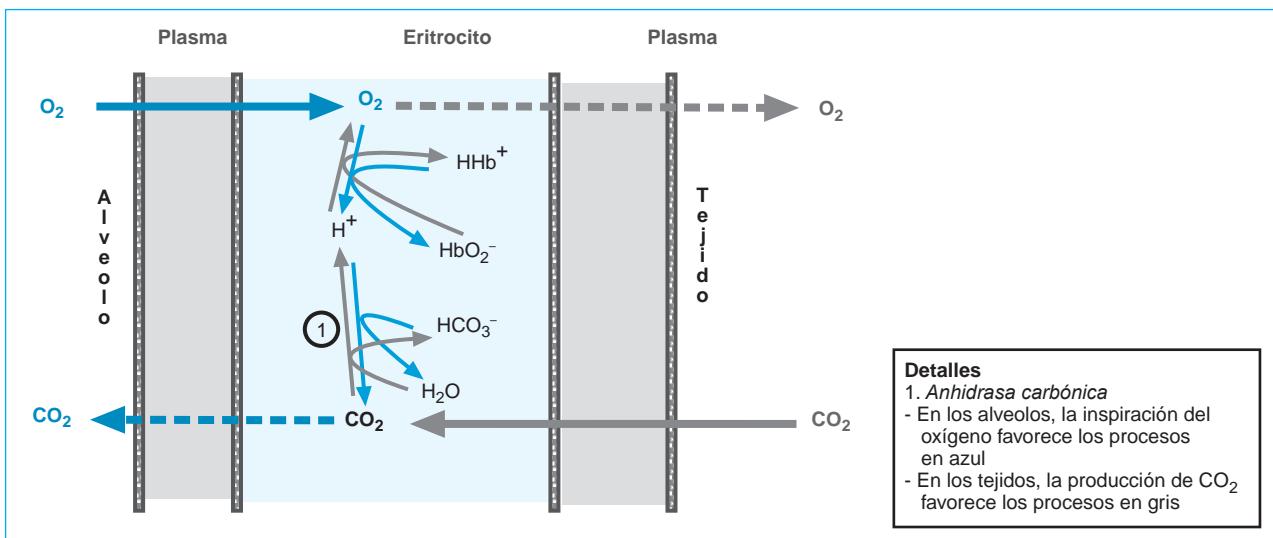


Figura 30-6. Transporte de gases en la sangre. Intercambio de CO_2 y O_2 entre el eritrocito y los alveolos y tejidos. La enzima anhidrasa carbónica es fundamental en estos procesos.

librio se alcance en muy poco tiempo y que el transporte se realice de forma más eficaz.

Básicamente, (Fig. 30-6) el proceso se resume como sigue: el dióxido de carbono procedente de los tejidos llega por difusión al plasma y de ahí, al interior del eritrocito. Parte del gas se va a transportar disuelto, pero la mayor parte reacciona según el equilibrio [30.1], catalizado por la anhidrasa carbónica, dando lugar a bicarbonato y protones libres. Este bicarbonato difunde al plasma y se transporta como tal hacia los alveolos. La salida de este anión se produce a expensas de la entrada de otro, el anión cloruro, a través de una proteína de intercambio aniónico. Por ello, el contenido de cloruro de los eritrocitos de la sangre venosa es superior al de los arteriales, fenómeno conocido como desplazamiento del cloruro. Al mismo tiempo, parte del dióxido de carbono se une a la desoxihemoglobina, que tiene mayor afinidad por él que la oxihemoglobina. La presencia de protones libres, por la acción de la enzima, origina una bajada de pH, lo que, a su vez, facilita la liberación de oxígeno y la captación de CO_2 por parte de la hemoglobina (efecto Bohr). El resultado es que parte de este dióxido de carbono se une a la hemoglobina, formando carbaminohemoglobina, y así es transportado.

Al llegar a los alveolos pulmonares, el proceso es precisamente el opuesto. La mayor presión de oxígeno hace que éste difunda hacia el interior del eritrocito. Al mismo tiempo, entra el bicarbonato procedente del plasma, con la salida concomitante del anión cloruro. El oxígeno abundante favorece la obtención de oxihemoglobina a partir de hemoglobina. Puesto que la oxihemoglobina es un ácido más fuerte que la desoxihemoglobina, se liberan protones que van a contribuir, por un

lado, a que se libere CO_2 de la carbaminohemoglobina, que difundirá hacia el alveolo (efecto Haldane). Por otro lado, estos protones se unen a las moléculas de bicarbonato y la anhidrasa carbónica cataliza la reacción inversa, produciendo dióxido de carbono, que lógicamente también difunde.

30.5 GENÉTICA Y METABOLISMO DE LA HEMOGLOBINA

30.5.1 Evolución genética de la mioglobina y la hemoglobina

Los animales primitivos presentaban una globina de cadena única codificada por sólo un gen ancestral (Recuadro 30-3 y véase la Fig. 39-2). Hace unos 500 millones de años este gen se duplicó. Una de las copias pasó a ser antecesor de los genes de la mioglobina y la otra evolucionó hasta convertirse en gen antecesor de los de la hemoglobina. El animal más primitivo que posee mioglobina y hemoglobina diferenciadas es la lamprea (*Petromyzon marinus*, *Lampetra fluviatilis*), aunque su hemoglobina se presenta en forma de dímeros y con poca cooperatividad. Posteriormente, hace unos 400 millones de años, se produjo una segunda duplicación en el gen de la hemoglobina, apareciendo los antecesores de los genes de las cadenas α y β . Otras duplicaciones posteriores han dado lugar a la aparición de las cadenas ζ , γ y ϵ . En este proceso evolutivo de la familia mioglobina-hemoglobina, unos pocos aminoácidos se han mantenido invariables. Se trata de posiciones importantes para la molécula (histidina proximal y distal al hierro del hemo; zonas de contacto α_1 - β_2).

Recuadro 30-3.
ORÍGENES DE LA HEMOGLOBINA

La eficacia de la hemoglobina para captar y transportar el oxígeno es excelente. Por ello, resulta intrigante que un gusano, el *áscaris*, que infecta el intestino de una de cada seis personas en el mundo y que sólo puede prosperar en un ambiente anaerobio, no sólo disponga de moléculas de hemoglobina, sino que además esas moléculas puedan captar oxígeno con una fuerza unas 20 000 veces mayor que la Hb humana.

Para intentar explicar este hecho, algunos científicos piensan que la hemoglobina debió convertirse en captadora de oxígeno hace relativamente —en términos evolutivos— poco tiempo, unos 500 millones de años. La primera función de esa proteína pudo ser, hace unos 2000 millones de años, la de contribuir a la destrucción de un gas, el NO (óxido nítrico), abundante en la atmósfera de esa época, gas que hacía imposible que prosperaran las bacterias primitivas. Una vez captado el NO, usando su hierro metabólico como catalizador, el óxido nítrico se convertía en unos productos que no sólo no eran venenos, sino que podían ser utilizados por las bacterias como nutrientes.

Posteriormente, hace unos 1500 millones de años, cuando aparecen los

organismos anaerobios pluricelulares —el *áscaris* sería un superviviente de esa época—, la atmósfera comienza a ser rica en oxígeno, debido a la actividad de plantas y algas clorofílicas primitivas. Como este nuevo gas es tóxico para estos organismos, la evolución de la hemoglobina ayuda a solucionar el problema: la Hb se hace capaz de captar el oxígeno de la forma que conocemos, aunque sigue teniendo afinidad por el NO. Cuando ambos gases están presentes en la molécula, cada uno unido a sus respectivos centros de captación, reaccionan entre sí; el resultado es la eliminación del venenoso oxígeno y su conversión en nitratos y agua, nutrientes para esos organismos. Este mecanismo continúa funcionando en la actualidad en el intestino de los seres infectados por *áscaris*.

Finalmente, hace unos 500 millones de años, cuando surgen los primeros mamíferos, precursores, entre otros, de los seres humanos, se produciría otro salto evolutivo de la hemoglobina, que quedó encerrada en los eritrocitos, dejando de funcionar como eliminadora del oxígeno, convirtiéndose en la molécula captadora y transportadora del gas que conocemos en la actualidad. Sin embargo, esa modificación se hizo sin que la hemoglobina perdiese su capacidad de captar NO: simplemente, ya no tenía lugar la reacción entre ambos gases. Al tiempo, aparece otra habilidad

nueva: cuando se desoxigena, la Hb es capaz de captar el gas producto de la oxidación de los combustibles biológicos por el oxígeno, el CO₂. Este gas, unido a esa desoxi-Hb, efectúa el camino hacia los pulmones donde, durante la respiración, es intercambiado por el oxígeno.

¿Qué papel tendría ese NO que sigue siendo captado por la *hemoglobina moderna*? La idea de los defensores de la hipótesis es la de que la Hb lo utiliza como *centinela*. El NO sería un sensor de la pO₂ de los tejidos por los que la sangre circula, y cuando detecta un nivel especialmente bajo, abandona la molécula de Hb, entra en los vasos sanguíneos que alimentan esos tejidos, los dilata y favorece la entrada de la sangre en ellos y la subsiguiente liberación de oxígeno. La Hb, entonces, se desoxigena, capta CO₂, vuelve a los pulmones, libera ese gas, se llena de oxígeno y vuelve a empezar.

De acuerdo con esta teoría, muchas enfermedades podrían tener su origen, al menos parcial, en la forma inadecuada en la que el organismo enfermo trata al NO y al oxígeno; entre ellas, las enfermedades cardíacas, la hipertensión, la apoplejía, el asma, muchos tipos de cáncer, la tuberculosis o la artritis. De ahí, el interés en la elucidación de los mecanismos que regulan esas relaciones.

y $\alpha_2\beta_1$). No obstante, a pesar de los cambios apreciables en la estructura primaria de esta familia de proteínas, la estructura secundaria y terciaria se han mantenido inalteradas. Ello sucede porque en los cambios de la estructura primaria se han sustituido aminoácidos por otros de su misma naturaleza y sólo han perdurado las proteínas cuya estructura fisiológica funcional se ha mantenido (fundamentalmente, el pliegue de la cadena que mantiene el hemo).

30.5.2 Alteraciones patológicas

Hemoglobinopatías

Tal como se señalaba en el Capítulo 25, se denominan así las enfermedades en las que existen moléculas de hemoglobina

anormales por alteraciones en su estructura, derivadas de mutaciones en los genes estructurales que las codifican. En la actualidad, se han detectado unos 350 tipos diferentes. Se citan, a continuación, algunas de las más características.

— *Hemoglobina S (falciforme)*. Así denominada porque da lugar a eritrocitos característicos con forma de hoz (*drepanocitosis*), que son responsables de un tipo de anemia hemolítica grave que recibe el nombre de *anemia falciforme*. Es frecuente en individuos de origen africano. Su alta incidencia en algunas regiones de África ha llevado a proponer que el gen mutado que codifica este tipo de hemoglobina puede, a su vez, servir de protección frente a las formas más letales de malaria (paludismo), debido a la destrucción

precoz de los eritrocitos infectados. Éste sería un claro ejemplo del denominado polimorfismo balancead o ventaja heterocigótica: los individuos heterocigóticos se encuentran protegidos frente a la malaria y, al mismo tiempo, no sufren anemia falciforme, mientras que los homocigóticos normales, que no sufren anemia falciforme, son mucho más proclives a padecer malaria. La característica más notable de esta hemoglobina S es su baja solubilidad en estado desoxigenado (25 veces inferior a la normal). Ello implica la precipitación de la proteína en el interior del eritrocito, lo que produce la unión de unas moléculas de desoxihemoglobina con otras, formando largas fibras helicoidales, en las que las moléculas se alinean como las perlas de un collar. Estos hechos originan lesiones en la membrana del eritrocito y cambio en su morfología, lo que, a su vez, ocasiona destrucción prematura del eritrocito y problemas en la circulación sanguínea, con oclusión de capilares e isquemia.

El defecto en la hemoglobina S se produce por la sustitución, en la posición 6 de la cadena β , de un residuo de ácido glutámico cargado por uno de valina neutra. Ello implica la desaparición de dos cargas negativas respecto a la hemoglobina A.

- *Hemoglobina C*. En ella, el ácido glutámico de la posición 6 de la cadena β está sustituido por lisina. Aunque la frecuencia de esta mutación es sólo del 25% con respecto a la frecuencia de aparición de Hb S, el número de adultos con Hb C es similar al de los que poseen Hb S, ya que la tasa de supervivencia de los que poseen Hb C es similar a los individuos con hemoglobina normal. Otras hemoglobinas mutadas frecuentes son la *Hb B*, en la que la glutamina sustituye al ácido glutámico, en la posición 121 de la cadena β y la *Hb E*, en la que la lisina sustituye al ácido glutámico en la posición 26 de la cadena β . En estos casos sólo aparece anemia hemolítica moderada.
- Otro grupo de hemoglobinas anormales es el constituido por las que sufren una alteración en las cercanías del grupo hemo. Ello dificulta la unión del oxígeno. A este grupo pertenecen las denominadas *hemoglobinas M* (de *metahemoglobina*, es decir, ferrihemoglobina). Los individuos que padecen esta hemoglobinopatía sufren una cianosis continua, debido a que la hemoglobina es incapaz de fijar oxígeno y cederlo a los tejidos. Algunos casos corresponden a la sustitución de histidina por tirosina, lo que estabiliza el grupo hemo en forma férrica (hemoglobinas M Boston, Saskatoon, Iwate y Hyde-Park), y en otro caso se sustituye valina por glutámico (M Milwaukee).

— Existe otro grupo de hemoglobinas con cadenas de globina con la estructura alterada y una facilidad anormal de sufrir desnaturalización. Se les denomina *hemoglobinas inestables* y su precipitación en el interior del eritrocito origina los denominados cuerpos de Heinz. Dentro de este grupo, se encuentran hemoglobinas que pierden el grupo hemo como la Hb Hammersmith (Phe sustituida por Ser, en la posición 42 de la cadena β). Otras sufren alteraciones en la estructura secundaria, como en la Hb Bibba (Leu sustituida por Pro en α 136). En otros casos se altera el contacto entre subunidades, como en la Hb Philly (Phe sustituye a Tyr en α 35). En ocasiones, se produce delección de aminoácidos como en la Hb Gun Hill, en la que se pierden 5 aminoácidos (los de las posiciones 91 a 95 de la cadena β).

— Otro tipo de hemoglobinas anómalas es el constituido por las que tienen la estructura cuaternaria alterada, lo que suele llevar a una pérdida de propiedades alóstéricas y, con ello, a una modificación en la afinidad por el oxígeno. Así, en la Hb Kempsey, Asn sustituye a Asp en la posición β 99, desestabilizando la conformación desoxihemoglobina y, por tanto, aumentando la afinidad por el oxígeno. Por el contrario, en la Hb Kansas, Thr sustituye a Asn en β 102, lo que impide la estabilización del estado oxigenado y, con ello, disminuye la afinidad por el oxígeno.

Se han descrito otros muchos tipos de hemoglobinas en las que existen diferentes modificaciones, que no comentaremos dado su gran número y variedad.

Talasemias

Se denominan así las enfermedades en las que existe un defecto hereditario en la síntesis de algunas de las subunidades de la hemoglobina, aunque la estructura de las cadenas es normal; esto es lo que diferencia este grupo de alteraciones de las hemoglobinopatías comentadas anteriormente. El término procede del griego *thalassa*, que significa mar, indicando la alta incidencia de algunas formas de talasemia entre los individuos que viven a orillas del Mediterráneo, región de la que eran originarios los primeros casos descritos. Existen dos grandes grupos de talasemias, las α -talasemias (déficit en cadenas alfa) y las β -talasemias (déficit en cadenas beta). En ambos casos, existe un defecto en la producción de hemoglobina A, lo que determina la aparición de anemia microcítica e hipocrómica. En otras ocasiones, las cadenas que quedan sintetizadas en exceso precipitan sobre la membrana del eritrocito, produciendo hemólisis.

Tal como se indicaba en el Capítulo 25, el origen genético de las talasemias puede consistir en:

- a. Pérdida de uno o varios de los genes que codifican las cadenas de hemoglobina.
- b. Mutación en alguno de los genes, lo que da lugar a una cadena acortada o no funcional.
- c. Mutación, fuera de las regiones codificadoras, que origina un bloqueo de la transcripción o un inadecuado procesamiento del ARNm.

Las α -talasemias homocigóticas, dada la deficiencia de las cadenas alfa, originan problemas sobre todas las hemoglobinas normales que se han descrito (A , A_2 y F). Se compensa, en parte, por la formación de tetrámeros β_4 (*hemoglobina H*) y tetrámeros γ_4 (*hemoglobina de Bart*). Estos tetrámeros unen y transportan oxígeno, pero carecen de cooperatividad y no experimentan el efecto Bohr. En el *síndrome de hidropesía fetal*, sólo existe Hb de Bart y algo de HbH. Los individuos afectados mueren antes de nacer, a las 34 semanas aproximadamente, aunque algunos consiguen nacer, pero mueren a las pocas horas.

En la β -talasemia homocigótica, el déficit en la síntesis de las cadenas β hace que, para compensar, persista la síntesis de cadenas γ , y haya hemoglobina F en etapas de la vida posteriores al nacimiento. Estos enfermos suelen fallecer antes de llegar a la madurez. El exceso de cadenas γ origina su precipitación en el interior del eritrocito, lo que produce una maduración anormal del eritrocito y hemólisis, con la anemia subsiguiente. La *talasemia β^+* es más leve. En ella, la transcripción de los genes β está inhibida parcialmente, por lo que la producción de β -globina no está bloqueada por completo.

Un tipo de talasemia relacionada, descrita en Grecia y en individuos de raza negra, cursa con ausencia de cadenas δ y β y se compensa adecuadamente por la síntesis de cadenas γ durante la vida adulta. La afección no es grave y los pacientes no presentan cuadros anémicos. Esta alteración leve se denomina *persistencia hereditaria de la hemoglobina fetal (HPFH)*.

30.6 METABOLISMO DEL GRUPO HEMO

30.6.1 Biosíntesis del hemo

El grupo hemo es un representante típico de una estructura porfirínica. Estas moléculas están formadas por cuatro anillos pentagonales nitrogenados, llamados *pirrólicos*, unidos por puentes metilideno (grupos $=CH-$) en las posiciones 2 y 5 para formar una estructura cíclica. A su vez, los grupos pirrólicos tienen sustituyentes en sus posiciones 3 y 4, que dan lugar a muchas porfirinas diferentes. Las porfirinas suelen unir un ion metálico en su interior, y son parte esencial de gran cantidad de proteínas. Tenemos varios ejemplos: *a) en el Reino vegetal, la clorofila, esencial para la fotosíntesis, contiene uno de estos grupos con Mg(II) en su interior y, b)*

en los animales, todo el metabolismo aerobio depende de proteínas como la hemoglobina o los citocromos, que contienen un grupo porfirínico con un átomo de Fe(II) en su interior, el *grupo hemo*. La Figura 30-2 muestra la estructura del grupo hemo de la hemoglobina, formado por la *proto-porfirina IX* y un ion ferroso, Fe(II).

Por tanto, el metabolismo del *grupo hemo* está relacionado con la *hemoglobina*, pero, también, con otras sustancias, como la *mioglobina*, los *citocromos*, la *peroxidasa*, la *catalasa*, las *clorofilas* o el *anillo corrina* de la vitamina B₁₂, que derivan metabólicamente de la glicina y el succinato.

El 95% del peso seco de los eritrocitos maduros humanos es *hemoglobina* no recambiable, por lo que los destinos de la hemoglobina y del grupo hemo siguen caminos paralelos a los de los eritrocitos en los que se encuentran. Ello supone la necesidad de una síntesis de hemoglobina simultánea a la formación de nuevos eritrocitos. A continuación, se describe la síntesis del grupo hemo.

La biosíntesis comienza y finaliza en el interior de la mitocondria, aunque sus transformaciones intermedias tienen lugar en el citoplasma (Fig. 30-7). El primer paso lo cataliza la enzima *δ -aminolevulínato sintasa* (Fig. 30-8), de vida media corta, dependiente de fosfato de piridoxal, que es inhibida y reprimida por el grupo hemo y algunos de sus derivados. Una vez que el *ácido δ -aminolevulínico (ALA)*, formado en el interior de la mitocondria, pasa al citoplasma, la condensación, con deshidratación, de dos moléculas del mismo, catalizada por la *porfobilinógeno sintasa*, conduce a una ciclación, con la formación del anillo heterocíclico del *porfobilinógeno (PBG)*, en una transformación inhibible por metabolitos hemáticos. El plomo inactiva la enzima, lo que explica algunos de sus efectos perjudiciales. Posteriormente, la *uroporfirinógeno I sintasa* cataliza la condensación desaminativa de 4 anillos de PBG, formando una superestructura cíclica con cuatro anillos pirrólicos: el uroporfirinógeno I, o *urógeno I*. La enzima *urógeno III cosintasa* consigue que el cuarto anillo pirrólico se condense girado 180° respecto a los tres anillos acompañantes, formando el uroporfirinógeno III, o *urógeno III* (Fig. 30-9).

En las moléculas de urógeno III (fisiológicas) o urógeno I (anormales, al no ser precursores de estructuras ferroporfirínicas), unas *descarboxilasas* específicas actúan sobre sus sustituyentes $-\text{CH}_2-\text{COO}^-$ y los convierten en metilos. Las moléculas de *coprógeno* citoplásicas así resultantes se introducen en las mitocondrias, donde la enzima *coprógeno oxidasa* consigue la transformación del *coprógeno III* en protoporfirinógeno o *protógeno III*, en una reacción que consume oxígeno y supone la descarboxilación y deshidrogenación de dos sustituyentes $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COO}^-$ en dos anillos pirrólicos adyacentes, convirtiéndolos en grupos vinilos. La *proto-porfirinógeno oxidasa*, situada en la membrana interna mitocondrial, finaliza el resto de las deshidrogenaciones necesarias

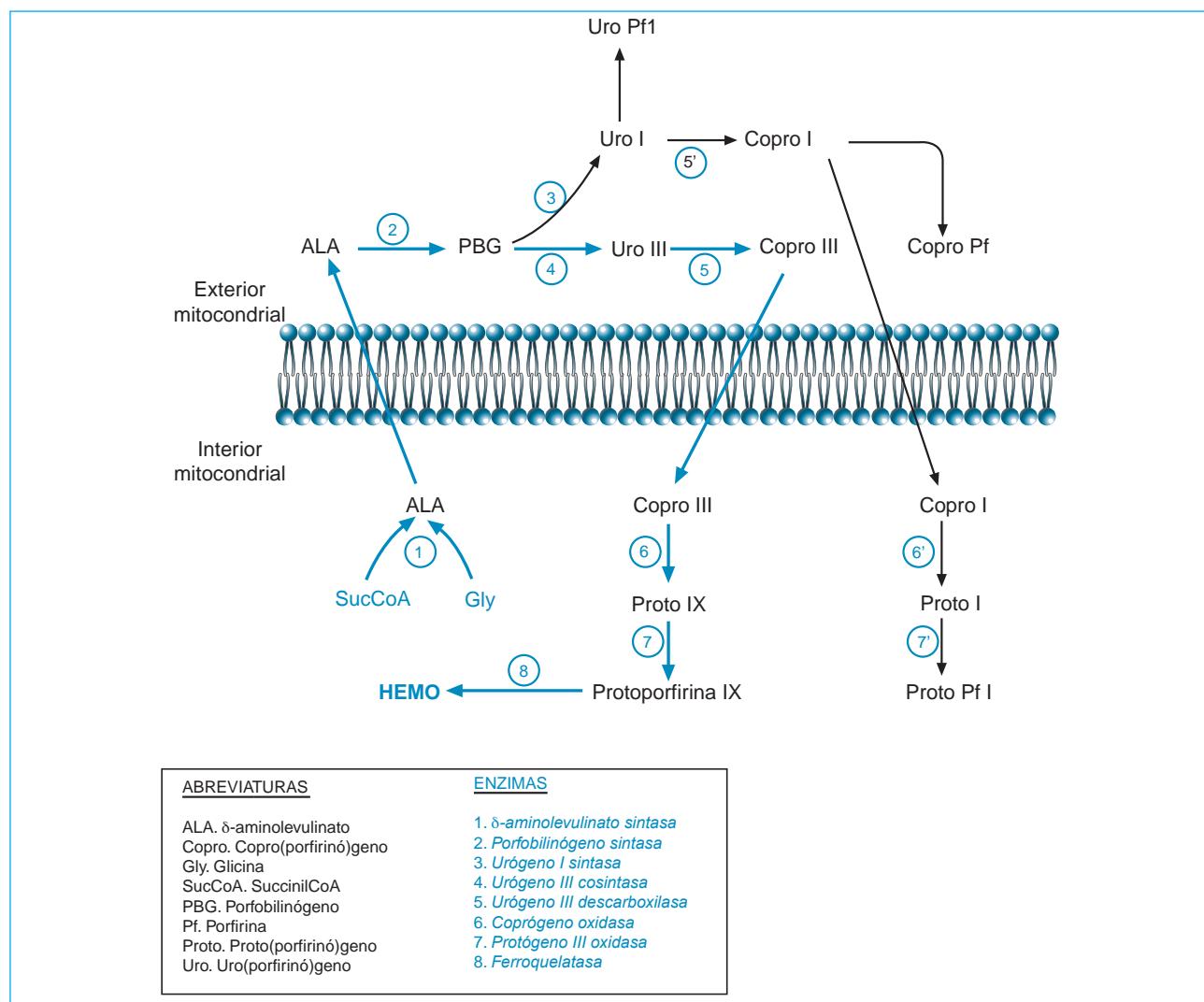


Figura 30-7. Esquema global de la biosíntesis del grupo hemo. Las etapas iniciales y finales transcurren intramitocondriamente y las intermedias, en el citoplasma.

para formar en el ciclo el sistema de once dobles enlaces resonantes, con hibridaciones sp^2 , que hace que la molécula resultante, la *protoporfirina IX* (según otros criterios de nomenclatura, de tipo III), posea un núcleo tetrapirrólrico plano. En general, se denominan *porfirinas* a este tipo general de estructuras tetrapirrólicas, con un sistema de dobles enlaces resonantes, con independencia de la naturaleza de los ocho sustituyentes situados en los núcleos pirrólicos.

El proceso biosintético finaliza con la enzima *ferroquelatasa*, ubicada fundamentalmente en la membrana interna mitocondrial de los hepatocitos, que cataliza la incorporación de hierro ferroso, específicamente a la *protoporfirina IX*, pero no a otras porfirinas, tras lo cual el grupo hemo se combina con las globinas para formar la hemoglobina.

30.6.2 Porfirinurias y porfirias

La *porfirinuria* es la acumulación anormal de pigmentos porfirínicos en la orina, y se nombra haciendo referencia a las propias alteraciones del metabolismo porfirínico, provocadas como consecuencia de otras enfermedades o de fármacos. Así, en la *coproporfirinuria de la enfermedad hepática crónica*, el problema es de excreción hepática, lo que provoca la desviación de la coproporfirina I desde la bilis a la orina.

Las verdaderas *porfirias* son trastornos de origen genético hereditario que afectan a la síntesis del hemo, con acumulación de intermedios metabólicos (incluyendo o no porfirinas). Dependiendo de su presentación, se clasifican en hepáticas, eritrocitarias y mixtas. Sus consecuencias suponen

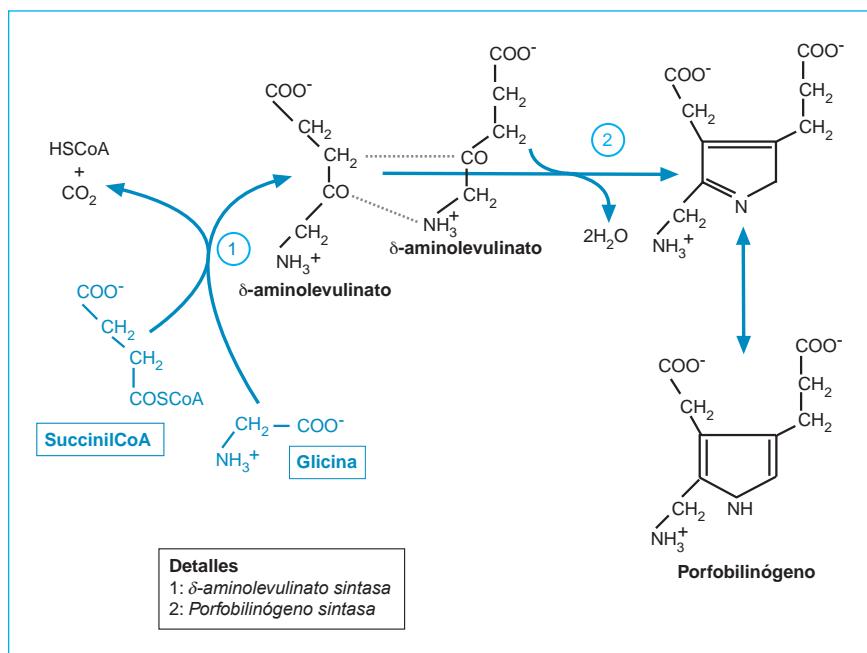


Figura 30-8. Primera parte de la ruta biosintética del grupo hemo, hasta porfobilinógeno.

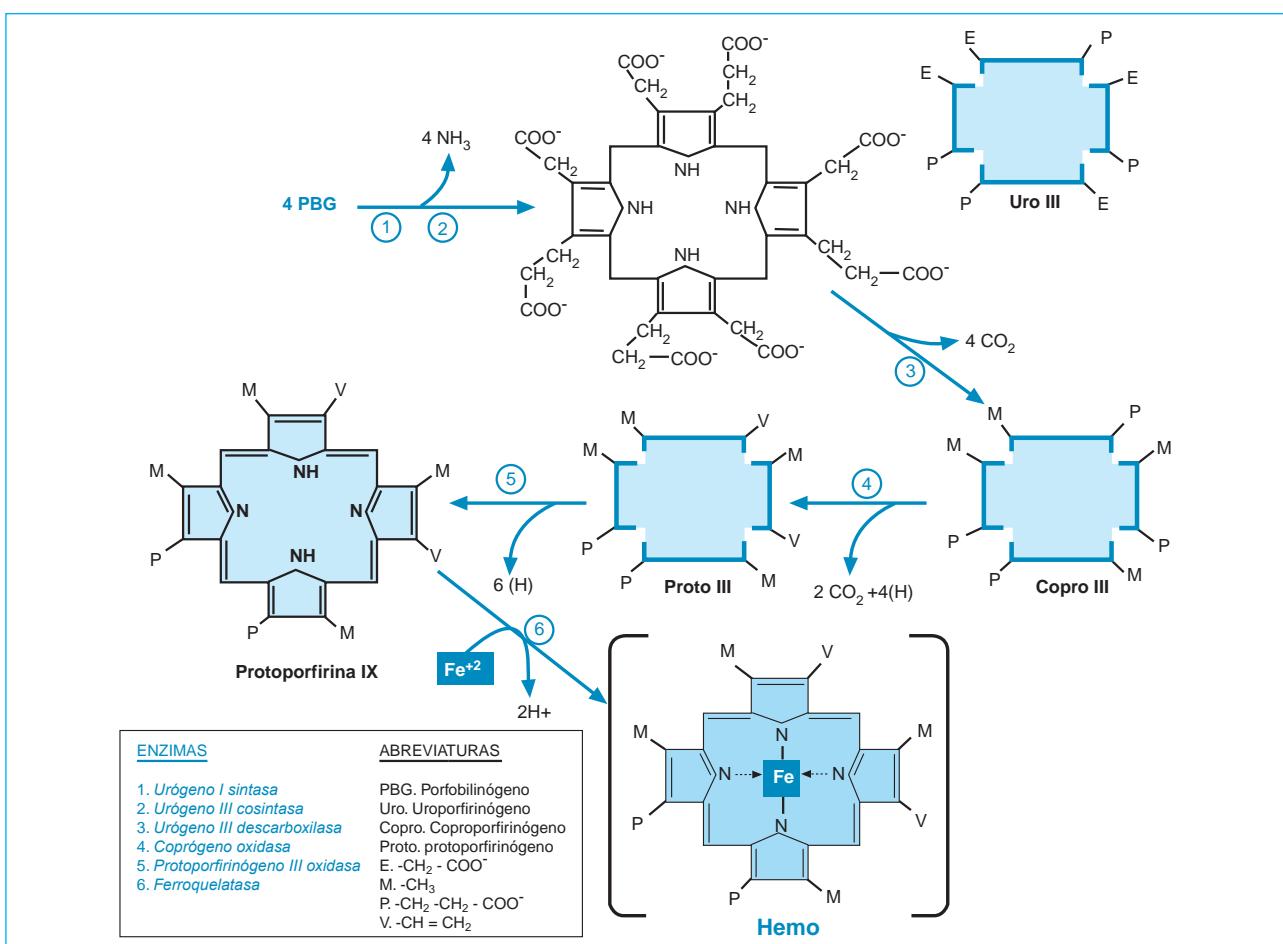


Figura 30-9. Segunda parte de la ruta biosintética del grupo hemo, desde urógeno hasta hemo.

Tabla 30-1. Tipos de porfiras

Enzima deficitaria	Porfiria	Afectación	Acúmulo	
δ -ALA ↓ PBG	PBG sintasa	Aguda de Doss	H	Pr (orina)
	Uro I sintasa	Aguda intermitente	H	Pr (orina)
	Uro III cosintasa	Eritropoyética congénita (Gunther)	E	U I (orina); C I (heces); U I (eritrocitos)
Uro I ↓ Copro I	Uro descarboxilasa	Cutánea tardía	H	U I; C I; C III (orina)
Uro III ↓ Copro III	Coprooxidasa	Coproporfiria hereditaria	H	C III (heces)
	Protooxidasa	Jaspeada; variegata	E	Pr (orina); P (heces)
Proto IX ↓ Protoporfirina IX	Ferroquelatasa	Protoporfiria eritropoyética	E	P (heces, eritocitos)
ABREVIATURAS				
δ -ALA. Delta-aminolevulinato	Uro. Uroporfirinógeno	U. Uroporfirina		
Copro. Coproporfirinógeno	H. Hígado	P. Porfirinas		
PBG. Porphobilinógeno	E. Eritrocitos	Pr. Precursores		
Proto. Protoporfirinógeno	C. Coproporfirina	(ALA, PBG)		

una o varias de las siguientes posibilidades: *a*) trastornos hematológicos y fotosensibilización con lesiones en la piel; *b*) ataques agudos de dolor abdominal, debidos a la acumulación de ALA y PBG y, *c*) trastornos neurológicos o psiquiátricos, por la afectación del metabolismo neuronal por ALA, PBG, o ambos. En la Tabla 30-1 se relacionan las porfirias con sus respectivos fallos genéticos (todos dominantes, excepto la *porfiria aguda de Doss* y la *congénita de Günther*, con carácter recesivo) y con la principal acumulación de metabolitos (orina, heces o eritrocitos).

30.6.3 Catabolismo del grupo hemo

El destino del grupo hemo es paralelo al del eritrocito al que pertenece, con una vida media de unos 120 días, hasta que el eritrocito es fagocitado extravascularmente, en el sistema reticulendoendotelial, por los *macrófagos*, células de alto contenido en lisosomas degradativas, abundantes en el hígado, la

médula ósea, el bazo y los ganglios linfáticos. En todos los tejidos puede tener lugar algo de catabolismo (basta con observar la evolución pigmentaria aparecida tras golpes y magulladuras, debida fundamentalmente a la conversión del hemo en pigmentos biliares), pero el papel catabólico protagonista lo tiene el hígado.

Partiendo de la hemoglobina eritrocitaria, los macrófagos facilitan su catabolismo hasta la *bilirrubina*. Asimismo, en la sangre existen proteínas específicas, las *haptoglobinas*, que son α_2 -globulinas plasmáticas hepáticas que recogen la hemoglobina liberada intravascularmente por la lisis de los eritrocitos y la transportan hasta las células hepáticas para su catabolismo (Fig. 30-10). Del mismo modo, si en la sangre hay restos de grupo hemo o de *hematina* (hidroxiferriporfirina), una β -globulina de origen hepático, la *hemopexina*, los fija y traslada hasta el hígado, para su posterior degradación.

Tras la fagocitosis lisosómica, en el retículo endoplásmico de los macrófagos, la enzima microsómica *hemooxigena-*

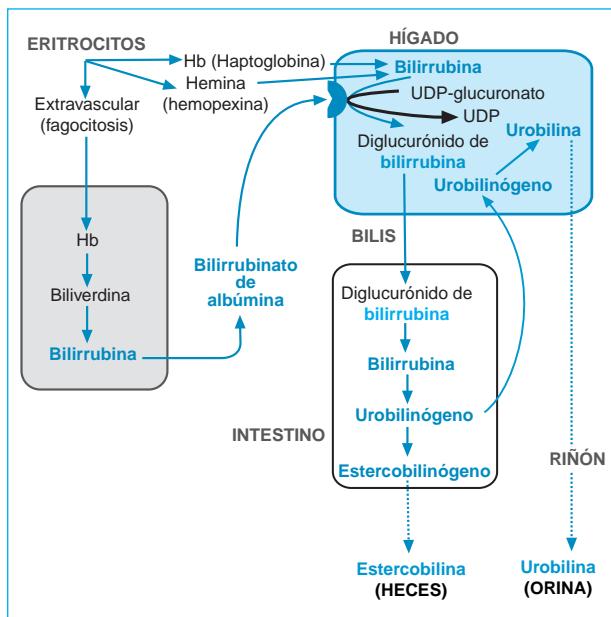


Figura 30-10. Esquema global del catabolismo del grupo hemo.

sa actúa sobre los grupos hemo liberados. Se trata de una oxidasa de función mixta, que necesita oxígeno, NADPH y citocromo P₄₅₀ para romper el puente meténico *alfa* situado entre los núcleos pirrólicos I y II, liberándose el átomo de carbono como monóxido de carbono. El tetrapirrol lineal carente de hierro resultante, la *biliverdina IXa*, de color verdoso, conserva los dobles enlaces conjugados y la disposición en el plano. Esta reacción es la única metabólica conocida productora de CO, habitualmente exhalado en la respiración, y el papel del CO como gas mediador es objeto de interesantes investigaciones.

La enzima citoplasmática *biliverdina reductasa*, dependiente de NADPH, actúa sobre el puente meténico central y lo reduce, originando la *bilirrubina* (Fig. 30-11), pigmento amarillo bastante liposoluble, que atraviesa las membranas y

puede provocar graves interferencias metabólicas en las células del sistema nervioso. Para evitarlo y canalizar toda la bilirrubina producida por las células del sistema reticuloendotelial, la bilirrubina se une a la albúmina plasmática, en forma no covalente de *bilirrubinato de albúmina*. A pH fisiológico, esta característica aniónica de la bilirrubina hace que otros aniones (sulfonamidas, tiroxina, ácidos grasos, etc.), si están presentes en concentración suficiente, puedan interferir el transporte y, con ello, liberar bilirrubina de su complejo con la albúmina, con la correspondiente toxicidad y el desarrollo de encefalopatías.

Unas proteínas básicas hepáticas pequeñas, las *ligandinas*, favorecen el atrapamiento de la bilirrubina unida a la albúmina. Ya dentro de las células parenquimatosas del hígado, la bilirrubina se esterifica a través de sus dos carboxilos propionicos con el —OH en C1 del UDP-glucuronato (véase el Cap. 14), catalizando el proceso la enzima del retículo endoplásmico, *UDP-glucuroniltransferasa*. La molécula resultante, por su tamaño, no puede atravesar la membrana celular o pasar a la sangre, por lo que se excreta por la bilis hasta el intestino, donde su tamaño también le impide que sea absorbida por las células intestinales, continuando su camino a lo largo del tracto intestinal.

En el intestino, las *β-glucuronidasas* bacterianas hidrolizan el *diglucurónido de bilirrubina* y, posteriormente, transforman la bilirrubina hasta sus derivados, el *urobilinógeno* y el *estercobilinógeno*. Una porción pequeña de urobilinógeno, usando la circulación enterohepática, puede reabsorberse, llegar finalmente al riñón y eliminarse por la orina. En todo caso, de un modo espontáneo, tanto el urobilinógeno, como el estercobilinógeno se oxidan a *urobilina* y *estercobilina*, que son pigmentos que proporcionan a la orina y a las heces sus colores amarillo y marrón, respectivamente.

30.6.4 Ictericias

Consisten en la acumulación de bilirrubina libre, conjugada, o de sus derivados, lo que da una coloración visible, amarillenta o verdosa, al plasma, la piel y las mucosas. Las causas pueden ser diversas. En cuanto a los genes y enzimas implicados en el metabolismo del hemo, a veces, el problema radica en la existencia de un proceso lento de maduración, como ocurre en la *ictericia crónica leve*, o *enfermedad de Gilbert*, muy frecuente en los varones, que afecta a la *UDP-glucuronil transferasa*, y que puede exacerbarse con fármacos, tales como la *fenobarbitona*. Sin embargo, en el *síndrome de Criggler-Najjar* (auto-sómico recesivo), el déficit hereditario en los homocigotos da lugar a ictericia y encefalopatía graves.

Las *hiperbilirrubinemias* se clasifican en *no conjugadas* y *conjugadas*, según predomine la bilirrubina libre o el diglucurónido de bilirrubina. Entre las causas de las no conjugadas

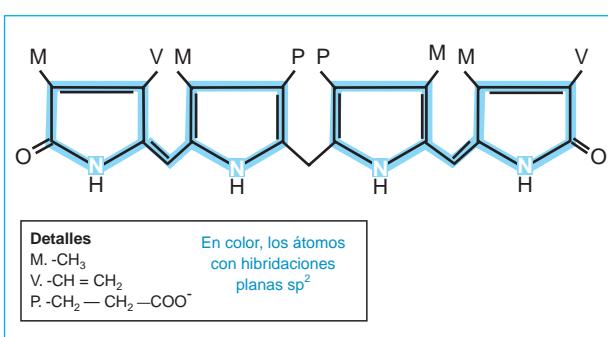


Figura 30-11. La molécula de bilirrubina.

das se pueden citar: *a)* producción aumentada, entre otras causas, por hemólisis intensa; *b)* problemas de captación hepática por competencia de algunos fármacos con las ligandinas (p. ej., el *ácido flavospídico* usado en las parasitosis); *c)* conjugación defectuosa por falta de maduración (*ictericia fisiológica del recién nacido*) o por causas genéticas hereditarias y, *d)* lesiones hepatocelulares por hepatotóxicos (*cloforomo, tetracloruro de carbono, alcohol*) o por hepatitis virales. En cuanto a las causas de las hiperbilirrubinemias conjugadas, se podrían indicar, entre otras: *a)* el bloqueo del conducto biliar (cálculos, tumores); *b)* los daños hepáticos causados por fármacos, hormonas, infecciones bacterianas o virales y, *c)* algunos trastornos hereditarios.

30.7 COAGULACIÓN SANGUÍNEA

Al producirse una hemorragia, el organismo reacciona para contener la salida de la sangre mediante un proceso conocido como *hemostasia*, en el que el paso final es la formación de polímeros que producen un tapón de fibrina, ésta procedente de la proteólisis del *fibrinógeno* (proteína soluble del plasma, pero que no forma parte de lo que se conoce como suero). El proceso se denomina *coagulación sanguínea*, y tiene lugar por una cascada de activación de proenzimas o zimógenos (véase el Cap. 9).

El primero de los mecanismos en el proceso de hemostasia consiste en la constricción vascular. A continuación, se produce la formación del tapón plaquetario. Las plaquetas se adhieren al colágeno de los vasos sanguíneos y comienzan a liberar aminas vasoactivas, como la serotonina y la adrenalina, y tromboxanos (principalmente, el TXA₂), sustancias derivadas de las prostaglandinas (véase el Cap. 6), que potencian la propia activación de las plaquetas. A continuación, y antes del inicio de la formación del coágulo de fibrina, se produce la agregación de las plaquetas, formando un tapón inestable que evita en primera instancia la salida de la sangre, y sirve de soporte para que comience el proceso de coagulación propiamente dicho.

En el proceso de coagulación, la forma activada de un factor cataliza la activación del siguiente. Salvo tres de ellos, todos pertenecen al grupo de las *serina proteasas*, enzimas proteolíticas con un modo de actuación similar al de la *tripsina*. Este mecanismo en cascada funciona como amplificador, ya que la concentración de los factores en el plasma es muy pequeña, y lleva consigo dos grandes ventajas: por un lado, la formación del trombo de fibrina se puede producir a gran velocidad, factor importante para evitar cuantiosas pérdidas de sangre; y por otro, se produce una buena homeostasis o regulación, que en este caso es imprescindible para impedir el desarrollo de procesos patológicos agudos, como las trombosis.

En 1863, Joseph Lister demostró que en la yugular sectionada de una vaca, la sangre permanecía líquida, mientras que cuando se depositaba en un vaso de vidrio se producía una rápida coagulación de la misma. Esta superficie no fisiológica activaba una secuencia de reacciones, conocida como *vía intrínseca de la coagulación*. Además, la coagulación puede producirse por contacto con sustancias procedentes de los tejidos traumatizados, por activación de la denominada *vía extrínseca de la coagulación*. Ambas vías convergen en una secuencia final, denominada *vía común*, que conduce a la formación del coágulo de fibrina (Fig. 30-12). Una vez producida la ruptura de los vasos, la coagulación se desarrolla a través de las dos vías, aunque la extrínseca es más rápida que la intrínseca. Las vías intrínseca y extrínseca interactúan entre sí en el organismo y ambas son necesarias para una coagulación correcta. De hecho, la deficiencia de una proteína perteneciente a una de las vías origina anomalías en la coagulación, aunque la otra vía funcione correctamente.

30.7.1 Vía intrínseca

Se denomina así porque todos sus componentes están presentes en la sangre. En ella participan factores solubles, y se inicia con el contacto de la sangre con el tejido conjuntivo subendotelial (rico en cargas negativas), activándose parcialmente el *factor XII* (Hageman). Éste actúa sobre una molécula de *precalicreína* (factor Fletcher) unida a la *proteína HMWK* (quininógeno de alto peso molecular), lo que produce la formación de *calicreína*, que actúa a su vez sobre el *factor XII*, activándolo por completo (XIIa). Los factores de

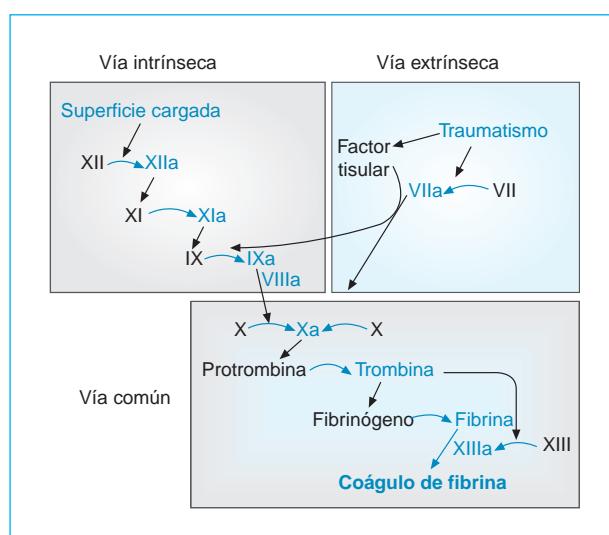


Figura 30-12. Esquema resumido del proceso de coagulación sanguínea. Las vías intrínseca y extrínseca convergen en la vía común.

Tabla 30-2. Factores que intervienen en la coagulación

<i>Factor</i>	<i>Nombre</i>	<i>Vía</i>
I	Fibrinógeno	Común
II	Protrombina	Común
III	Tromboplastina tisular	Extrínseca
IV	Calcio	Todas
V	Proacelerina	Común
VI	Inexistente	
VII	Proconvertina	Extrínseca
VIII	Antihemofílico	Intrínseca
IX	Factor de Christmas	Intrínseca
X	Factor de Stuart-Prower	Común
XI	Antecedente de la tromboplastina del plasma	Intrínseca
XII	Factor de Hageman	Intrínseca
XIII	Factor estabilizador de fibrina	Común
----	Factor de Von Willebrand	Intrínseca
----	Precalicreína	Intrínseca
----	Quininógeno de elevada masa molecular	Intrínseca

coagulación se designan, de acuerdo con el Comité Internacional de los Factores de la Coagulación Sanguínea, por un número romano, según el orden cronológico de su descubrimiento. También, poseen un nombre común, como queda recogido en la Tabla 30-2. La letra «a» a continuación del número, indica que éste se encuentra activado. Obsérvese, no obstante, que el *factor VI* no existe. El *factor XIIa* actúa sobre el XI, y el *factor XIa* actúa sobre el IX, siendo necesaria la presencia de iones de calcio. De hecho, el calcio es necesario para casi todas las reacciones de la coagulación, por lo que se puede prevenir la coagulación de la sangre *in vitro* por eliminación de iones Ca^{2+} , al hacerlo reaccionar con oxalacetato o citrato.

A su vez, el *factor tisular* (*factor III*) y el *factor VII* activado (componentes del sistema extrínseco) pueden activar también el *factor IX*, una prueba más de la interrelación entre ambos sistemas. El *factor IXa* forma un complejo con el *factor VIIIa*, que va a ser el que active el *factor X* en la vía común.

30.7.2 Vía extrínseca

Se inicia con la liberación del *factor tisular*, conocido también como *tromboplastina tisular* o *factor III*, que es una

lipoproteína que forma un complejo con el *factor VII* activado, en presencia de iones de calcio y fosfolípidos. Este complejo va a activar los *factores IX* y *X*, lo que constituye la primera etapa de la vía común.

30.7.3 Vía común

Como resultado de la vía intrínseca, el complejo formado por el *factor IXa*, los iones de calcio, los fosfolípidos plaquetarios y el *factor VIIIa*, va a activar el *factor X*. El *factor VIII* se activa por la acción de la propia trombina, después de haber llegado transportado por la circulación y estabilizado por el *factor von Willebrand*, que también es fundamental en el proceso de adhesión y de agregación plaquetaria.

Como resultado de la vía extrínseca, el complejo factor VIIa-factor tisular, en presencia de iones de calcio, es el responsable de la activación del factor X.

La activación del factor X constituye, pues, la etapa más importante de la coagulación, al encontrarse controlada por la acción de las dos vías, extrínseca e intrínseca, y también, por producir la conversión de *protrombina* en *trombina*. En el paso de protrombina a trombina actúa el factor Xa, formando un complejo con iones de calcio, fosfolípidos y factor V,

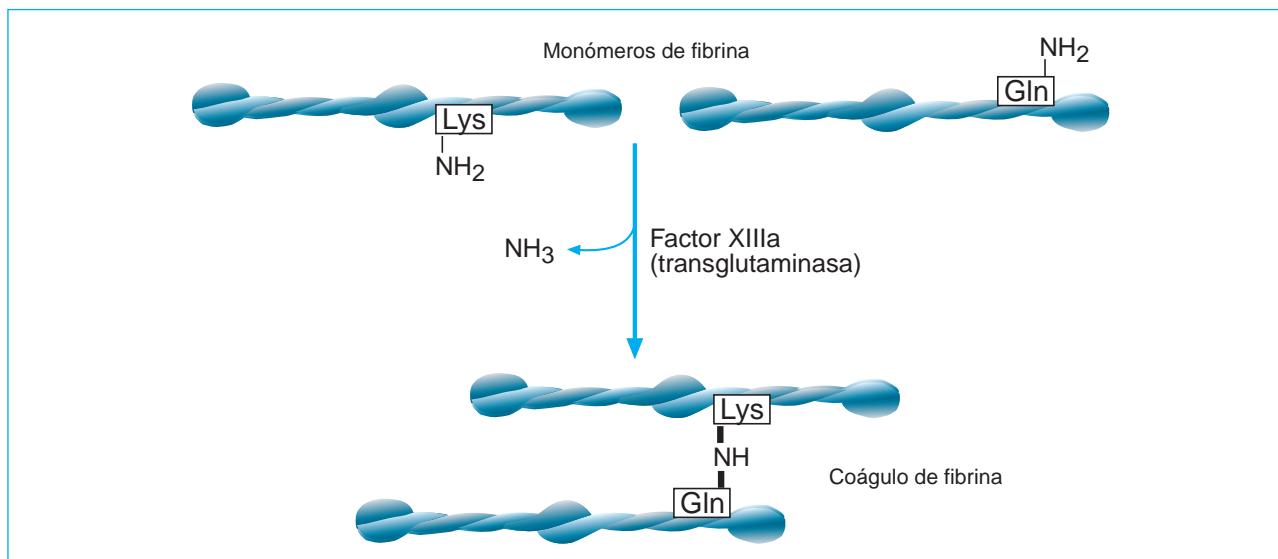


Figura 30-13. Transamidación de dos moléculas de fibrina. La reacción tiene lugar entre un residuo de glutamina de una de ellas y uno de lisina de la otra. Con este proceso, catalizado por el factor XIIIa, se consigue la formación del coágulo de fibrina.

activado este último por la propia trombina y el propio factor Xa. La protrombina se encuentra libre en el plasma, después de sintetizarse en el hígado, en un proceso dependiente de la vitamina K.

A continuación, la trombina actúa de forma proteolítica sobre el *fibrinógeno*, transformándolo en *fibrina*. Esta acción proteolítica es la responsable de que las moléculas de fibrinógeno, separadas por su carga eléctrica, sufran una modificación en la misma que les permita, una vez convertidas en moléculas de fibrina, su agregación. Esta polimerización conduce a lo que se denomina coágulo blando, que se va a endurecer por la formación de uniones covalentes entre distintas moléculas de fibrina, por una reacción de *transamidación* entre las cadenas laterales de lisina y glutamina de dos moléculas. Esta reacción está catalizada por el factor XIIIa, factor estabilizador de fibrina. La activación del mismo la lleva a cabo la trombina. Se forma así el coágulo duro o red de fibrina (Fig. 30-13).

30.7.4 Regulación de la coagulación

Independientemente de las estrategias fisiológicas que impiden la formación arbitraria de trombos intravasculares (barrera celular entre las fibras de colágeno y plaquetas; alta velocidad de flujo sanguíneo, eliminando hacia el hígado parte de los factores activados), existen mecanismos bioquímicos de regulación.

La existencia de inhibidores de los factores, así como la naturaleza inestable de los factores Va y VIIIa, son algu-

nos de estos controles de regulación. Los inhibidores son proteínas plasmáticas, algunas ya mencionadas, como la proteína C, la proteína S, el cofactor II de la heparina y, fundamentalmente, la antitrombina III. La proteína C y la proteína S inactivan los factores Va y VIIIa. Por otro lado, la *trombomodulina* es una proteína unida a la membrana endotelial, que se asocia con trombina para activar a la proteína C. La antitrombina III es una α -globulina que inhibe a la trombina por la formación de un complejo con ella. Asimismo, inhibe otros factores activados, como el XIIa, XIa, IXa, VIIa y Xa. Esta acción inhibitoria se ve incrementada por la *heparina* (polisacárido de carga negativa, localizado cerca de las paredes de los vasos sanguíneos y en la superficie de las células endoteliales), tanto endógena como la administrada de forma exógena, que produce un cambio de conformación en la antitrombina III, que incrementa 1000 veces su afinidad por la trombina. La antitrombina pertenece a la familia de las *serpinas* (inhibidores de las serina proteasas, del inglés *serine protease inhibitors*).

30.7.5 Fibrinólisis

Los coágulos de fibrina formados se degradan una vez que se restaura la integridad estructural de las áreas dañadas. La lisis del coágulo la realiza otra serina proteasa, denominada *plasmina*, que se forma por la activación proteolítica del *plasminógeno*, su precursor inactivo. Esta conversión se produce por la acción de un activador tisular de plasminó-

geno (TPA). La propia plasmina puede actuar sobre el plasminógeno, acelerando este proceso de conversión. Otras proteínas exógenas pueden también activar el plasminógeno. Entre ellas, podemos citar la *uroquinasa* y la *estreptokinasa*, que presentan interés por su acción terapéutica en la disolución de trombos que obstruyen la circulación coronaria.

Por otro lado, la plasmina puede inhibirse fisiológicamente por la acción de la proteína plasmática α_2 -antiplasmina, con la que forma un complejo inactivo. El factor XIIIa, además de catalizar la formación del coágulo duro, facilita el entrecruzamiento de fibrina con la α_2 -antiplasmina, lo que hace a la fibrina más resistente a la plasmina.

30.7.6 Alteraciones patológicas de la coagulación

El déficit o la ausencia de alguno de los factores implicados en la coagulación sanguínea da lugar a enfermedades o alteraciones patológicas de este proceso. Así, a modo de ejemplo, en la Tabla 30-3 se recogen algunas de ellas y los factores implicados.

En general, casi todos los factores de la coagulación son sintetizados en el hígado, por lo que enfermedades hepáticas, como la cirrosis o la hepatitis, pueden originar una coagulación defectuosa.

Por otra parte, la vitamina K es necesaria para la síntesis hepática de protrombina, proteína C, factor IX y factor X. Por tanto, la disminución de los niveles de vitamina K origina deficiencias en la coagulación. En las enfermedades intestinales y en los procesos con ausencia de secreción de bilis al intestino, se puede producir déficit de vitamina K, debido a la malabsorción y digestión de grasas (la vitamina K, sintetizada por las bacterias del tubo digestivo es liposoluble y se absorbe junto a las grasas).

La más conocida es la *hemofilia A*, una enfermedad hereditaria recesiva ligada al sexo, que afecta de forma casi exclusiva a varones. Aparece un caso por cada 10 000 individuos. Las mujeres heterocigóticas son portadoras asintomáticas. Un ejemplo cercano lo constituye la Reina Victoria, portadora de la enfermedad, que la transmitió a las familias reales de Prusia, Rusia y España. La enfermedad se produce porque el factor VIII de la vía intrínseca (conocido como factor antihemofílico) está ausente o presenta una actividad marcadamente reducida. Hasta hace poco, los hemofílicos graves eran tratados con transfusiones de plasma, que contenía altas concentraciones de factor VIII (ello suponía un alto riesgo de contraer infecciones como el SIDA, la hepatitis, etc.). Actualmente, el factor VIII se sintetiza mediante la tecnología del ADN recombinante (véase el Cap. 25), con lo que se elimina el riesgo de contraer estas infecciones por esa vía.

Tabla 30-3. Alteraciones de la coagulación y factores relacionados

Factor	Enfermedad
Fibrinógeno	Afibrinogenemia, hipofibrinogenemia
Protrombina	Hipoprotrombinemia
Factor V	Parahemofilia
Factor VII	Déficit congénito del factor VII
Factor VIII	Hemofilia A
Factor IX	Hemofilia B
Factor XI	Hemofilia C
Factor XII	Síndrome de Hageman
Precalicreína	Síndrome de Fletcher
Quininógeno de elevada masa molecular (HMWK)	Síndrome de Fitzgerald
Factor Von Willebrand	Enfermedad de Von Willebrand

RESUMEN

- Las proteínas plasmáticas mantienen la presión oncótica de la sangre y, por tanto, el volumen vascular. Participan en el transporte de sustancias, en los mecanismos de defensa y en el mantenimiento de diferentes tipos de equilibrio. Se clasifican en albúmina, α_1 -globulinas, α_2 -globulinas, β -globulinas, γ -globulinas y fibrinógeno.
- La hemoglobina es una hemoproteína tetramérica, en la que cada monómero está constituido por una cadena de globina y un grupo hemo. Existen distintas cadenas de globina similares, que determinan la existencia de varios tipos de hemoglobina. Las más importantes son la Hb A (mayoritaria en el adulto), Hb A₂ y Hb F (fetal).
- La hemoglobina presenta cooperatividad en la unión del oxígeno, lo que le permite transportarlo con eficacia desde los pulmones a los tejidos. La presencia de 2,3-bifosfoglicerato, la disminución del pH, la presencia de CO₂ y el aumento de la temperatura favorecen la liberación de oxígeno en los tejidos.
- La mioglobina es una proteína muscular que está constituida por sólo una cadena de globina y un grupo hemo. Carece de cooperatividad en la unión de oxígeno y actúa como reservorio muscular de oxígeno.
- Las numerosas enfermedades asociadas a alteraciones de la molécula de hemoglobina se clasifican en hemoglobinopatías y talasemias. Entre las primeras, destacan la anemia falciforme y las metahemoglobinopatías. En las talasemias se produce un déficit en las cadenas de globina. Se clasifican en α -talasemias y β -talasemias.
- El CO₂ se transporta en la sangre, mayoritariamente en forma de bicarbonato (70%), unido a la hemoglobina (24%) o disuelto en el plasma o los eritrocitos (6%). La anhidrasa carbónica del eritrocito cataliza las conversiones entre dióxido de carbono y bicarbonato.
- El metabolismo del grupo hemo está íntimamente ligado al de la hemoglobina y al de los eritrocitos. Su biosíntesis comienza y finaliza intramitochondrialmente y está muy retrorregulada por la propia concentración de hemo y algunos de sus derivados. Los metales pesados, como el plomo, interfieren en la biosíntesis del hemo.
- Las porfirias son alteraciones patológicas genéticas de la biosíntesis del hemo. Se suelen acumular intermedios metabólicos y porfirinas anormales, dando lugar a alteraciones cutáneas con fotosensibilidad, dolores abdominales y alteraciones nerviosas, ya que las neuronas son muy sensibles a algunos de esos metabolitos.
- El catabolismo del hemo conduce hasta la bilirrubina, sustancia liposoluble y neurotóxica. Como protección, se transporta asociada con la albúmina hasta el hígado, donde tras conjugarse con el ácido glucurónico, pasa por vía biliar al intestino, donde la bilirrubina se modifica a otros pigmentos, alguno reabsorbible, por vía portal. Finalmente, los pigmentos eliminados son la urobilina, en la orina y la estercobilina, en las heces. Las alteraciones del proceso patológico dan origen a ictericias.
- La coagulación sanguínea se produce a través de una cascada de activación de factores distribuidos, según el origen de la coagulación, en una vía intrínseca, una vía extrínseca y una vía final, común a ambas.
- En la vía común se produce la activación de protrombina a trombina; ésta activa el fibrinógeno a fibrina, que sufre un proceso final de transamidación para formar el coágulo duro de fibrina. La fibrinólisis es llevada a cabo por la plasmina que se origina por activación del plasminógeno.
- La modificación o déficit de alguno de los factores conlleva la aparición de alteraciones de la coagulación. Entre ellas, la más conocida es la hemofilia A, que está originada por la carencia del factor VIII.

EVALUACIÓN

1. (A). Las proteínas plasmáticas:
 - a. Se sintetizan exclusivamente en el hígado.
 - b. Se sintetizan mayoritariamente en el hígado.
 - c. Se sintetizan preferentemente en las células sanguíneas.
 - d. Su origen es fundamentalmente renal.
 - e. Se sintetizan mayoritariamente en el páncreas.

2. (A). Respecto a la albúmina sérica, **no** es cierto que:
 - a. Se sintetice en forma de preproalbúmina.
 - b. Constituya alrededor del 55% del total de las proteínas plasmáticas.
 - c. Se sintetice mayoritariamente en la médula ósea.
 - d. A pH fisiológico posea carga negativa neta.
 - e. Su concentración regule el volumen vascular.

3. (B). Alteraciones de la hemoglobina Hb:
 1. En la anemia falciforme, la HbA se transforma en HbF.
 2. La HbF presenta la estructura $\alpha_2\gamma_2$.
 3. Sólo se conocen enfermedades genéticas con alteraciones en las cadenas α , pero no en las β .
 4. En la HbS, la cadena α es idéntica a la α de la HbA.

a b c d e

4. (A). Mioglobina:
 - a. Es una proteína oligomérica.
 - b. Su función principal es el transporte de oxígeno.
 - c. Facilita la transferencia de oxígeno en el músculo.
 - d. Se localiza en el sistema vascular.
 - e. Presenta el fenómeno de cooperatividad en su unión con el oxígeno.

5. (C). La anemia falciforme abunda en zonas endémicas de malaria PORQUE la HbS se caracteriza por poseer en la cadena β un resto glutamato en la posición 6, ocupada normalmente por valina.

a b c d e

6. (B). La enzima δ -aminolevulinato sintasa:
 1. Es una enzima intramitocondrial.
 2. Es dependiente del fosfato de piridoxal.
 3. Es regulable por el grupo hemo.
 4. Tiene como sustratos al succinato y la glicina.

a b c d e

7. (A). No es una porfiria hepática:
 - a. La congénita de Günther.

8. (B). Catabolismo del grupo hemo:
 1. Como consecuencia de la actuación de la hemoxigenasa se produce dióxido de carbono.
 2. La bilirrubina es transportada en el plasma en forma de diglucuronato.
 3. La haptoglobina es el primer intermediario metabólico de la degradación de la hemoglobina.
 4. La biliverdina producida se elimina mayoritariamente por las heces.

a b c d e

9. (A). Una ictericia provocada por la obstrucción de los canales biliares cabe esperar que se asocie a:
 - a. Bilirrubina libre baja.
 - b. Bilirrubina conjugada baja.
 - c. Heces con aumento de color.
 - d. Producción de gran cantidad de urobilina.
 - e. Nada de lo anterior.

10. (B). Coagulación sanguínea. Son componentes del sistema intrínseco:
 1. Factor XII.
 2. Fibrinógeno.
 3. Factor IX.
 4. Factor X.

a b c d e

11. (B). Son factores participantes en la fase común de la coagulación sanguínea:
 1. Factor X.
 2. Protrombina.
 3. Fibrinógeno.
 4. Factor XIII.

a b c d e

12. (C). El factor XIIIa favorece el paso de coágulo blando a coágulo duro PORQUE cataliza una transamidación formadora de enlaces covalentes entre moléculas diferentes de fibrina.

a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Josephy PD: Haemoglobin and cooperativity. *Biochem Mol Biol Educ* 1992; 20: 91-92.
- Krem MM, Di Cera E: Evolution of enzyme cascades from embryonic development to blood coagulation. *TiBS* 2002; 27: 67-74.
- Mattu M, Fasano M, Spallarossa A *et al*: Hemopexin: The Primary Specific Carrier of Plasma Heme. *Biochem Mol Biol Educ* 2002; 30: 332-335.
- Nurachman Z, Hermawan J, Rachmayanti Y *et al*: A Simple Way to Visualize Fibrinolysis in the Classroom. *Biochem Mol Biol Educ* 2003; 31: 16-19.
- Nucci ML, Abuchowski A: Sucedáneos de la sangre: *Inv y C* 1998; abril: 54-59.
- Ruiz-Larrea MB: A Simple Question to Think about When Considering the Hemoglobin Function. *Biochem Mol Biol Educ*. 2002; 30: 235-238.
- Spadaro CC, Assis-Pandochi AI, Lucisan-Valim YM *et al*: Salt Fractionation of Plasma Proteins: A Procedure to Teach Principles of Protein Chemistry. *Biochem Mol Biol Educ* 2003; 31: 249-252.

LA RESPUESTA INMUNITARIA

31

31.1 INTRODUCCIÓN

Es algo conocido, desde la Grecia antigua por escritos de Herodoto, que los individuos que sobrevivían al contacto con enfermedades infecciosas adquirían resistencia frente a posteriores infecciones por el mismo agente. Dicha resistencia, o inmunidad, es consecuencia de la activación de células especializadas en el reconocimiento de lo extraño, denominadas linfocitos, y de la producción de anticuerpos, un grupo de γ -globulinas séricas que reaccionan con componentes químicos de los agentes infecciosos, los antígenos, mediante una serie de complejos mecanismos inmunológicos, celulares y humorales, que se conocen, genéricamente, como respuesta inmunitaria.

A finales del siglo XIX, von Boehring sentó las bases para la comprensión de la respuesta inmunitaria, al estudiar la reacción química de neutralización de toxinas bacterianas por antitoxinas de caballo, mientras Paul Ehrlich estudiaba las reacciones de precipitación toxina-antitoxina. Fue el fisicoquímico Arrhenius quien, en 1907, definió el término inmuunoquímica, que surgió del estudio de estas reacciones de precipitación inmunitaria, como «*el estudio de la reacción química que originan compuestos producidos por la inyección de sustancias extrañas en la sangre de los animales (...) debiendo deducirse que las sustancias con las que esos productos reaccionan, también deben considerarse desde sus propiedades químicas*».

En términos más actuales, la inmuunoquímica estaría dedicada al estudio de las moléculas que participan en la respon-

ta inmunitaria. En este capítulo, de acuerdo con esta definición, se exponen las características químicas de los antígenos, de los anticuerpos, del complemento y de los receptores de membrana que participan de una manera más directa en la respuesta inmunitaria, de la que se dará una visión muy simple y somera.

31.2 ANTÍGENOS

Antígeno es un término que, aún hoy, se utiliza inadecuadamente, unas veces para describir la sustancia que, inyectada a un organismo apropiado, induce la producción de anticuerpos circulantes o cambios en la reactividad celular, y otras veces, para definir la sustancia capaz de reaccionar con anticuerpos ya existentes. Ambas definiciones no son equivalentes: hay sustancias que poseen especificidad antigenética, es decir, que son capaces de reaccionar con anticuerpos ya formados, pero no tienen capacidad de inducir la síntesis de éstos, lo que significa que no son inmunógenas.

En la Tabla 31-1 puede observarse una somera clasificación de los antígenos: naturales, artificiales y sintéticos; los dos últimos grupos han ayudado extraordinariamente a comprender la base química de la antigenicidad, dada la gran complejidad de los naturales, que incluyen macromoléculas e, incluso, células enteras. Con ellos se ha podido determinar que la región de un antígeno que ostenta la antigenicidad, denominada determinante antigenético o epítopo, no suele ser muy grande. Por ello,

Tabla 31-1. Clases de antígenos

Clase	Origen	Ejemplos
Naturales	Microbiano, vegetal y animal	Bacterias, virus, toxinas solubles, proteínas, hidratos de carbono, glicoproteínas, lipoproteínas, etcétera.
Artificiales	Antígenos naturales modificados químicamente	Proteínas yodadas, conjugados proteína-hapteno (ej.: azoproteínas).
Sintéticos	Moléculas sintetizadas químicamente	Polipéptidos, poliaminoácidos, copolímeros multicadena.

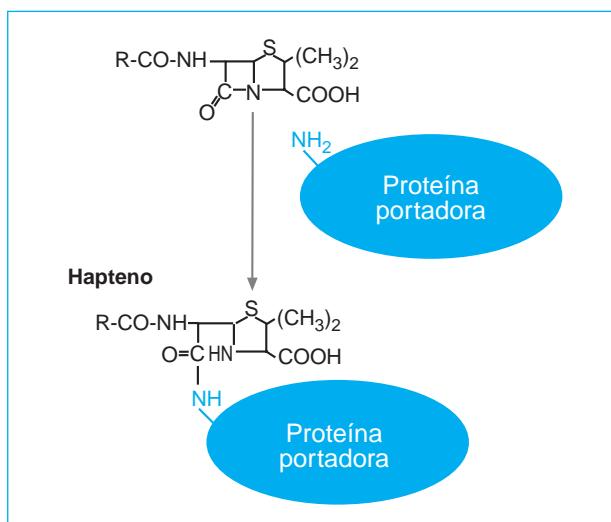


Figura 31-1. Un ejemplo de hanteno: La penicilina puede adquirir capacidad inmunógena cuando se une covalentemente a una proteína que actúa de carrier.

sobre todo en los antígenos de tamaño grande (y los naturales suelen serlo), puede haber más de un epítopo. Por tanto, un epítopo es un centro enlazante al anticuerpo. Asimismo, con el estudio de esos antígenos artificiales y sintéticos se ha demostrado que existen moléculas pequeñas, de menos de 1 kDa, sin capacidad inmunógena *per se* pero que, unidas a otras más grandes (molécula *carrier*), pueden adquirirla.

Estos compuestos se llaman hantenos. Una vez producida la respuesta inmunitaria, los hantenos son reconocidos por los anticuerpos sin necesidad de estar unidos al *carrier*. Algunos tipos de alergias son causadas por hantenos: un fármaco como la penicilina puede funcionar como tal (Fig. 31-1), al unirse, de forma covalente, a proteínas y, en determinados casos, desencadenar la respuesta inmunitaria contra el fármaco que presentan las personas alérgicas a este antibiótico.

31.3 ESTRUCTURA DE LAS INMUNOGLOBULINAS

31.3.1 Propiedades estructurales y clases

La estructura básica de las inmunoglobulinas (Ig), representada por las más abundantes en el suero de mamíferos, la IgG, se esquematiza en la Figura 31-2a. Este diagrama sigue el modelo de Edelman y Porter, basado en una serie de resultados experimentales, que se resumen en la Figura 31-2b. Al tratar una IgG con la enzima proteolítica papaína, las moléculas se escinden en tres fragmentos, dos de ellos iguales, los Fab (ab = para referirse al fragmento de unión al antígeno del inglés *antibody binding fragment*), monovalentes y capaces de unirse al antígeno, pero no de precipitarlo. El tercer frag-

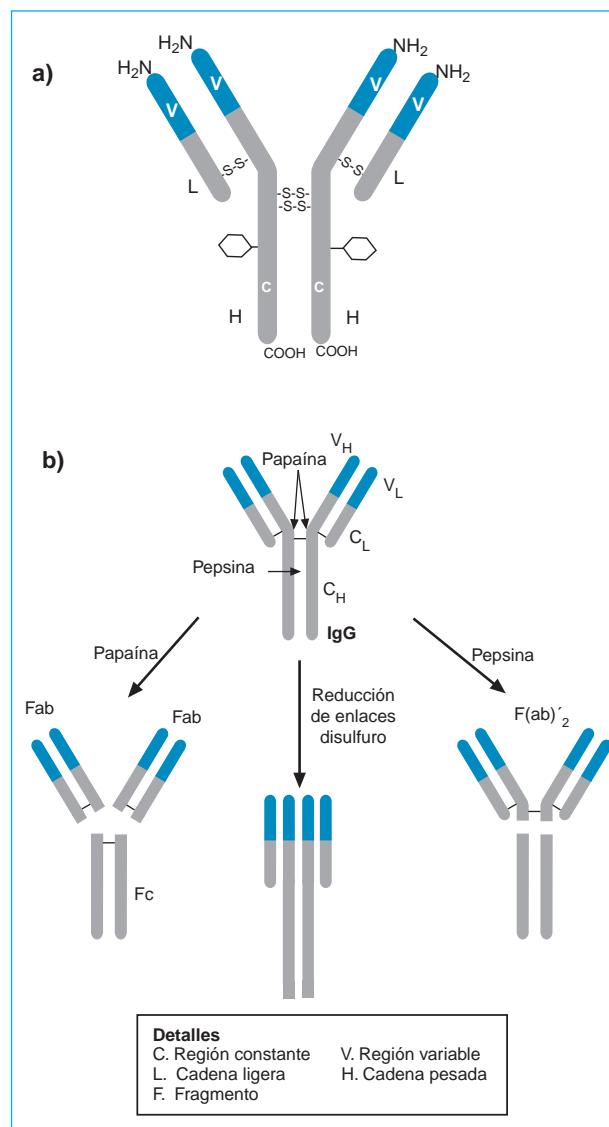


Figura 31-2. (a) Estructura esquemática tetramérica de la unidad básica de las inmunoglobulinas, con 2 cadenas ligeras (L) y 2 pesadas (H); (b) Fragmentación enzimática y reducción de los puentes disulfuro de las inmunoglobulinas, según el modelo de Edelman y Porter.

mento, diferente de los anteriores, el Fc (c, de cristalizable) es responsable de la actividad biológica común de las distintas clases de Ig.

La variabilidad y heterogeneidad de los anticuerpos radican, por tanto, en los fragmentos Fab. Por otra parte, tratando la IgG con otra enzima proteolítica, la pepsina, se escinde en otros fragmentos, uno de los cuales, el F(ab)'₂, mantiene unidos por un enlace covalente los dos fragmentos de unión al antígeno, y es capaz de enlazar y precipitar el antígeno. La reducción de los puentes disulfuro de las molé-

culas intactas de IgG resuelve la molécula en cuatro cadenas independientes, iguales entre sí, dos a dos; a las de mayor tamaño, con una masa molecular cercana a 53 kDa, las denominaron cadenas H (pesadas, del inglés *heavy*), y a las otras dos, más pequeñas, de unos 22 kDa, las llamaron cadenas L (ligeras del inglés, *light*).

La Figura 31-2a representa una molécula típica de una Ig, del tipo IgG, de fórmula general, L_2H_2 , que, con pequeñas variaciones, puede hacerse extensiva a todas las unidades básicas de los restantes tipos de Ig: IgA, IgM, IgD e IgE. Estas Ig se pueden encontrar de forma soluble tras ser secretadas por las células plasmáticas o ancladas en la membrana de los linfocitos B, donde actúan como receptor antigénico (BcR).

Las cadenas ligeras son comunes para todas las clases de anticuerpos y existen sólo dos formas diferentes, kappa y lambda (κ y λ), mientras que las pesadas son antigénica y químicamente específicas de cada tipo de Ig, existiendo de ellas cinco clases o isotipos: γ (IgG), α (IgA), μ (IgM), δ (IgD) y ϵ (IgE). En todas las Ig caracterizadas, las parejas de cadenas L y H son siempre del mismo tipo; por ejemplo, $\kappa_2\gamma_2$ para una IgG, o $\lambda_2\mu_2$ para una IgM, pero nunca se encuentra, por ejemplo, una $\kappa\lambda\mu_2$.

Las cadenas L se dividen en dos zonas o dominios, aproximadamente iguales en tamaño (100-110 aminoácidos), una de las cuales es muy variable de un anticuerpo a otro, por lo que se denomina V_L , mientras que la otra no varía de un anticuerpo a otro, por lo que se llama constante, es decir, C_L . En cuanto a las cadenas H, poseen también un dominio variable en su extremo amino terminal, muy semejante en tamaño a las V_H y denominado, por tanto, V_H , pero difieren en que poseen varios dominios constantes, los C_H , que según el tipo de Ig varían entre tres (caso de las IgG, IgA e IgD) y cuatro (en las IgM y E), y que se denominan C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} , y C_{H4} , respectivamente.

Los dominios V y C poseen escasa homología secuencial entre sí, mientras que las parejas V_H y V_L , C_{H1} y C_L o C_{H2} y C_{H3} sí son homólogas entre sí: cada uno de estos dominios posee entre 90 y 110 aminoácidos y contiene en su zona central un péptido cíclico cerrado por un enlace disulfuro entre 2 Cys distantes entre 40 y 70 residuos. Al plegarse, dichos dominios forman una estructura terciaria basada en fragmentos de láminas β antiparalelas unidos por puentes disulfuro. Todas las moléculas que poseen estos dominios se incluyen en el extenso grupo de la Superfamilia de las Inmunoglobulinas, aunque algunas tengan funciones distintas, como, por ejemplo, muchas proteínas de adhesión celular. Entre C_{H1} y C_{H2} está la región bisagra, de unos 10-15 residuos, muy rica en Cys y Pro; las Cys están implicadas en la formación de los puentes disulfuro entre las cadenas H, mientras que las Pro confieren una gran flexibilidad a la zona (Fig. 31-3), necesaria en la formación de redes reticulares complejas con los antígenos.

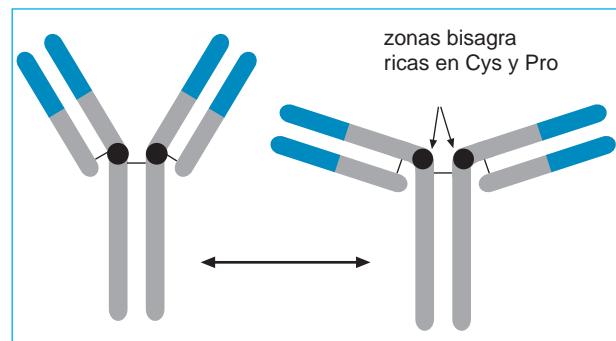


Figura 31-3. Zona bisagra de las cadenas H que confiere flexibilidad a la zona central de una inmunoglobulina.

31.3.2 Generación de la diversidad

Ha sido de gran importancia el descubrimiento de los mecanismos genéticos que, a partir de unos pocos genes, ofrecen la posibilidad de sintetizar millones de inmunoglobulinas diferentes. Cada cadena H o L está codificada por diversos segmentos distribuidos en el ADN de la línea germinal. Los genes de las cadenas H se forman con cuatro porciones diferentes: los que van a codificar la región variable son los V (de variabilidad), los D (de diversidad) y los J (de unión del inglés *joint*) (véase la Fig. 19-14), mientras los segmentos codificadores de la región constante son los C. Similarmente, los genes de las cadenas L se originan con tres porciones distintas: V y J, para la región variable y C, para la constante. Las regiones C de las cadenas L y H de todos los individuos de la misma especie se codifican por segmentos génicos de unas 200 kb, como los $C\gamma$ (en IgG), o $C\epsilon$ (en IgE), $C\alpha$ (en IgA).

En las células germinales (Fig. 31-4), los segmentos de una misma clase están agrupados, separados del resto por intrones, de modo que, por un lado, se encuentran los segmentos V y, por otro, los D y J. A medida que los linfocitos B maduran en la médula ósea, mediante la denominada recombinación somática, los segmentos V, D y J se aproximan y se forma el gen VDJ, tras lo cual el conjunto V-D-J se agrupa con el correspondiente segmento C, quedando conformado un gen completo para una cadena H. En las cadenas L, participan los segmentos V, J y C. Por tanto, cada linfocito B maduro tiene los genes de sus cadenas H y L necesarios para producir un determinado tipo de inmunoglobulina, primero, en forma de IgM e IgD, previa e independientemente de que se encuentre con el antígeno al que va dirigida.

Los programas de reordenamiento durante la recombinación somática favorecen la diversidad. Por ejemplo, partiendo de 200 segmentos V, 15 D y 6 J, se pueden originar 18 000 segmentos V_H , que podrían combinarse con cada uno de los correspondientes V_L , para dar un determinado Fab de una Ig.

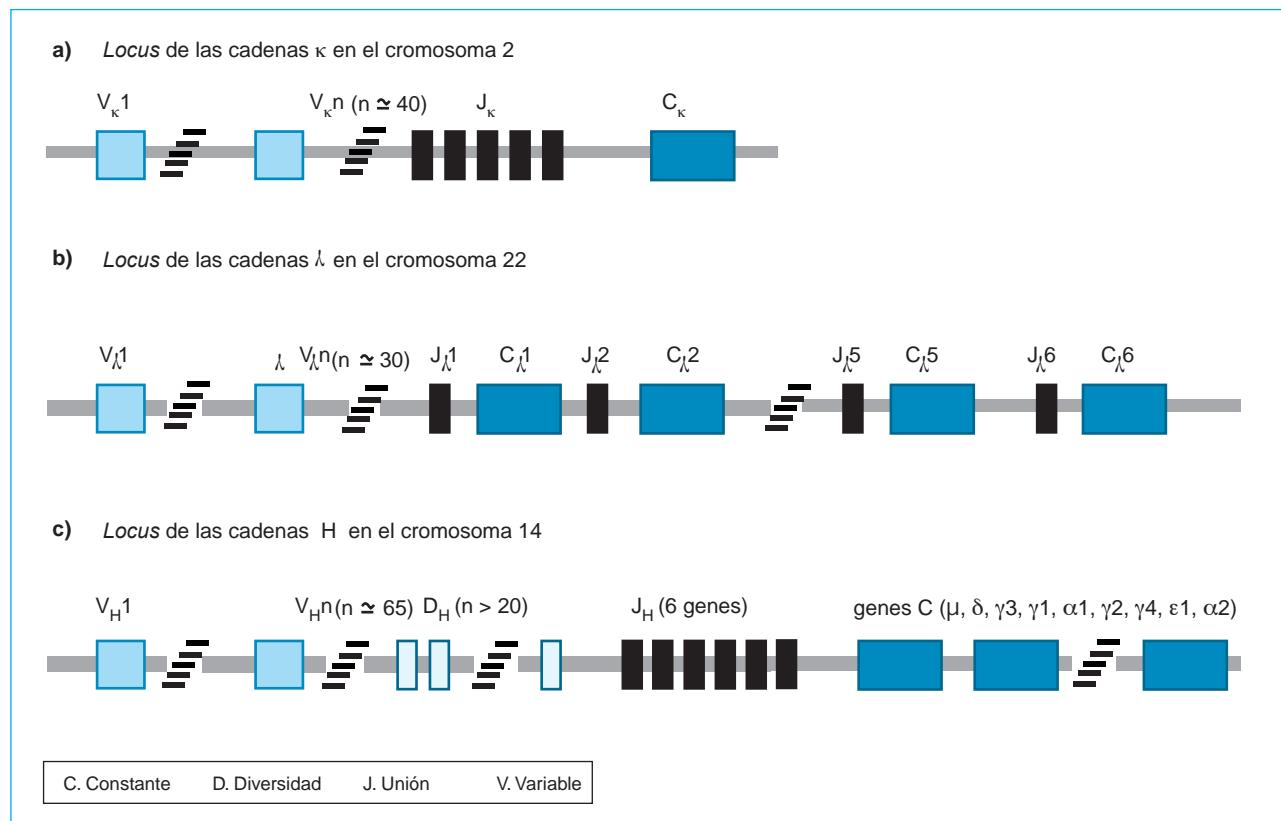


Figura 31-4. Esquema de la organización génica en células germinales, previa a la reordenación somática, que da lugar a los genes de las inmunoglobulinas humanas. El número aproximado de genes para regiones variables se indica en la figura.

Esta enorme diversidad combinatoria resulta incrementada por los fenómenos de diversificación de uniones y de hipermutación somática.

El origen de la diversificación de uniones es doble: por un lado, están las imprecisiones en las uniones V-J, V-D y D-J, mientras que por otro, hay que considerar la existencia de adiciones aleatorias de nucleótidos en las secuencias de unión. En cuanto a la hipermutación somática, actúa sobre los genes de los dominios variables ya reordenados, con alteraciones que tienden a acumularse en las zonas de unión al antígeno, llamadas regiones hipervariables. La existencia de este fenómeno es esencial en la producción de anticuerpos de afinidad creciente en el curso de la respuesta inmunitaria, puesto que introduce una diversidad adicional que no está codificada por los genes de la línea germinal.

En esas regiones hipervariables se ubican los aminoácidos responsables de la unión al epítopo del antígeno, es decir, los determinantes de la complementariedad. Aunque, en la estructura primaria, dichos centros de unión están separados, el plegamiento de la molécula los convierte en vecinos, dando lugar al centro combinante. Este centro es una área delimitada de los dominios V_H y V_L , que varía en tamaño y

forma según la naturaleza de los residuos de la región hipervariable del anticuerpo, mientras que los aminoácidos más conservados alrededor de esa zona, denominados residuos armazón, son una especie de molde que mantiene la región hipervariable y la especificidad de reconocimiento.

31.3.3 Otros componentes estructurales y ubicación

Todas las Ig se *N*-glicosilan en los dominios constantes de las cadenas pesadas, pero la función de este proceso no está bien definida, aunque las hace integrarse en el control de calidad del plegamiento, que lleva a cabo la calnexina en el RE (véase Cap. 26). Además, los otros tipos de Ig, aunque su estructura básica es semejante a la de la IgG, poseen alguna otra peculiaridad estructural. Las IgA, que fueron las primeras que se identificaron mediante inmunoelectroforesis en suero humano, suponen un 15% del total, y son muy semejantes a la IgG, sobre todo la IgA sérica, que se encuentra fundamentalmente (85%) como monómeros del tetramero básico α_2L_2 (7S) y el resto, como oligómeros (10, 13 y 15S).

Más diferente son las IgA secretoras, las predominantes en las secreciones, que suele encontrarse en una forma 11S, de

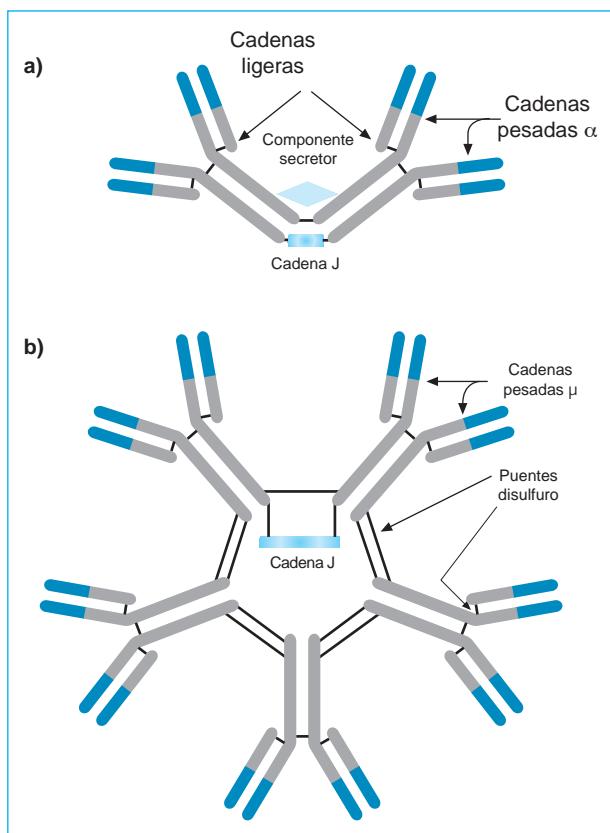


Figura 31-5. (a) Estructura dimérica de la IgA secretora con la cadena J y el componente secretor, que se une a nivel de la célula epitelial. (b) Estructura pentamérica de una IgM típica con la cadena J, que une las unidades primera y quinta. El resto de enlaces en trazo negro son puentes disulfuro.

380 kDa, consta de dos moléculas completas de IgA, más un componente secretor, de 70 kDa, y una cadena J, de 15 kDa (Fig. 31-5a). La cadena J se añade a las IgA, justo antes de que se produzca la secreción de las células plasmáticas, mientras que el componente secretor no lo fabrican esas células, sino las epiteliales. Las IgM humanas se presentan mayoritariamente como pentámeros, de fórmula $(\mu_2L_2)_5$. Cada unidad se une entre sí por puentes disulfuro, excepto las dos extremas que quedan unidas, tanto por enlace disulfuro, como por una cadena J, mostrando una estructura típica cíclica en estrella con 10 centros de unión al antígeno (Fig. 31-5b).

La síntesis de las diferentes poblaciones de anticuerpos está condicionada por el tipo de antígeno, la vía de entrada, etcétera. Las IgM e IgG son las predominantes en el plasma; las IgG e IgA predominan en el líquido extracelular, y las IgA oligoméricas predominan en las secreciones. El feto recibe IgG materna mediante transporte placentario, y la IgE se encuentra asociada a los mastocitos, predominantemente en los epitelios.

Una respuesta inmunitaria estándar, tras la inyección de un antígeno, suele consistir en una fase inicial de aparición de IgM, que tiene baja afinidad, aunque alta avidez (*véase* el apartado siguiente, 31.4), seguida de otra secundaria, principalmente, de IgG, de mayor afinidad, que queda luego como el anticuerpo principal del plasma. Sin embargo, la inyección no es la vía de llegada normal de un antígeno, y estudiando respuestas a antígenos tomados oralmente, se ha visto que la IgA es la forma predominante en la secreción mucosa local, mientras que la respuesta de IgM e IgG parece estar más relacionada con microorganismos que tienen una fase de su desarrollo en la sangre, dado que estas Ig tienen unas características buenas para activar el sistema de complemento, excelente aglutinación y localización eminentemente intravascular, lo que las capacita para desempeñar un papel destacado en la eliminación de esos microorganismos. Finalmente, parece que las IgE están implicadas en las alergias y en las respuestas a parásitos, mientras que no existe certeza sobre la función de la IgD.

31.4 LA REACCIÓN ANTÍGENO-ANTICUERPO

Esta reacción es consecuencia de la interacción recíproca y específica, entre un epítopo del antígeno y un centro enlazante del anticuerpo. El tamaño de los epítopos puede variar. La difracción de rayos X de los cocrystalos formados por anticuerpos y antígenos ha indicado que el centro enlazante del anticuerpo es relativamente pequeño, una especie de hendidura dentro de la que se incrusta el epítopo, siendo relativamente pocos los aminoácidos de las regiones determinantes de complementariedad los que entran en contacto directo con el epítopo. Sin embargo, utilizando antígenos como la lisozima y la neuraminidasa de la gripe, se ha demostrado que eso no siempre es así; y, en otros casos, la superficie del epítopo es relativamente grande e implica contactos hasta con 6 zonas diferentes determinantes de complementariedad.

Puesto que los anticuerpos pueden reconocer epítopos relativamente pequeños de los antígenos, ocasionalmente se encuentran con epítopos semejantes en otras moléculas, lo que constituye la base molecular de las denominadas reacciones cruzadas, que no tienen por qué restringirse necesariamente al antígeno original. Algunas veces, esto desencadena reacciones inmunitarias que se han propuesto como explicación de enfermedades autoinmunitarias. Las interacciones antígeno-anticuerpo, además, pueden originar grandes cambios estructurales en el antígeno o en el anticuerpo (p. ej., la eliminación del hemo de la hemoglobina, la activación de enzimas por su unión a un anticuerpo) que originan epítopos a partir de estructuras, tanto rígidas como flexibles.

El complejo inmunitario se estabiliza por la combinación de interacciones débiles que dependen de la interacción precisa de antígeno y anticuerpo. Las no covalentes son del mismo tipo que las que mantienen la estructura terciaria y cuaternaria de una proteína (puentes de hidrógeno, fuerzas de van der Waals, interacciones iónicas y fuerzas hidrofóbicas), por lo que pequeños cambios en la estructura del antígeno pueden afectar profundamente a su interacción con el anticuerpo: la pérdida de un solo puente de hidrógeno puede debilitarla unas cien veces. Por ello, cambios pequeños en la estructura del epítopo pueden impedir su reconocimiento como antígeno, y se han aislado anticuerpos capaces de diferenciar antígenos proteicos, en los que ha variado un único aminoácido.

Un concepto inmunoquímico importante es el de afinidad, que se define como una medida de la fuerza del enlace de un epítopo a un anticuerpo. El enlace antígeno-anticuerpo es no covalente y reversible, y sigue los principios termodinámicos básicos de cualquier interacción bimolecular reversible. Si $[Ac]$ es la concentración molar del anticuerpo libre; $[Ag]$, la del antígeno libre, y $[Ag-Ac]$, la del complejo antígeno-anticuerpo, se puede definir la constante de afinidad, K_A , como:

$$K_A = [Ag-Ac] / [Ag] [Ac]$$

Desde un punto de vista práctico, la afinidad describe la cantidad de complejo antígeno-anticuerpo ($Ag-Ac$) que hay en el equilibrio. El margen de valores de K_A existentes para el enlace $Ag-Ac$ es amplísimo, desde 10^5 hasta $10^{12} M^{-1}$, y depende de factores, como la temperatura, el pH del medio y el disolvente, entre otros.

Otro concepto interesante es el de avidez, que es una medida de la estabilidad total del complejo $Ag-Ac$. La fuerza total de una interacción $Ag-Ac$ está gobernada por la afinidad intrínseca del anticuerpo por el epítopo, la valencia de antígeno y anticuerpo y la ordenación geométrica de los componentes que interactúan. Un anticuerpo decavalente, como las IgM, que posea centros combinantes con la misma afinidad por un antígeno que una IgG bivalente, tendrá mayor avidez para dicho antígeno, que aumenta si, a su vez, éste es multivalente.

En la Figura 31-6 se dibujan diferentes inmunocomplejos que pueden producirse entre antígenos y anticuerpos, en función de sus correspondientes valencias, concentraciones, afinidades y diferentes grados de avidez.

31.5 CONSECUENCIAS DE LA REACCIÓN ANTÍGENO-ANTICUERPO

La formación de complejos $Ag-Ac$ puede desencadenar varios procesos. Uno de ellos es la opsonización de microor-

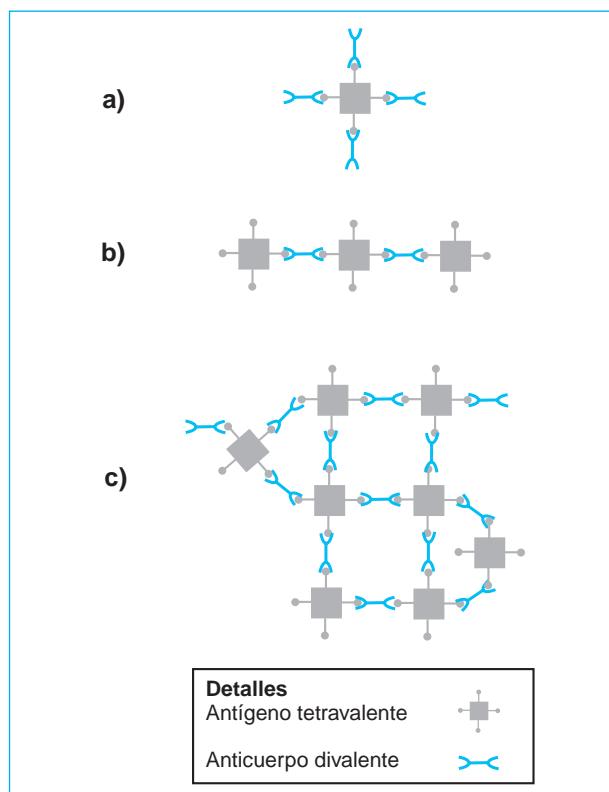


Figura 31-6. Esquema de la formación de inmunocomplejos $Ag-Ac$ en función de las concentraciones de ambos. a) Gran exceso de anticuerpo, complejo soluble; b) Gran exceso de antígeno, complejo soluble; c) Concentraciones próximas o equivalentes, con formación de grandes redes tridimensionales insolubles.

ganismos, que promueve la fagocitosis mediada por receptores expresados en células del sistema inmunitario, como monocitos o macrófagos (Fig. 31-7), que reconocen el fragmento Fc de las Ig a través de dichos receptores y, a continuación, proceden a eliminar el complejo $Ag-Ac$ y, con ello, el antígeno.

Otro proceso que puede desencadenar es la activación del sistema de complemento. Este sistema consta de un conjunto de proteínas plasmáticas, denominadas C1, C2..., y C9, entre otras, que circulan por el plasma y cuando se activan, ponen en marcha procesos de destrucción de las células diana. Dicha activación puede ser inespecífica, por la mera presencia de ciertos polisacáridos o liposacáridos de la pared celular, sin formación previa de anticuerpos (inmunidad natural o inespecífica), o específica, con formación previa de anticuerpos contra la célula diana.

La activación específica se desarrolla, como un proceso en cascada, tras la formación de un complejo $Ag-Ac$ por reacción de un anticuerpo, normalmente una IgM o IgG, con

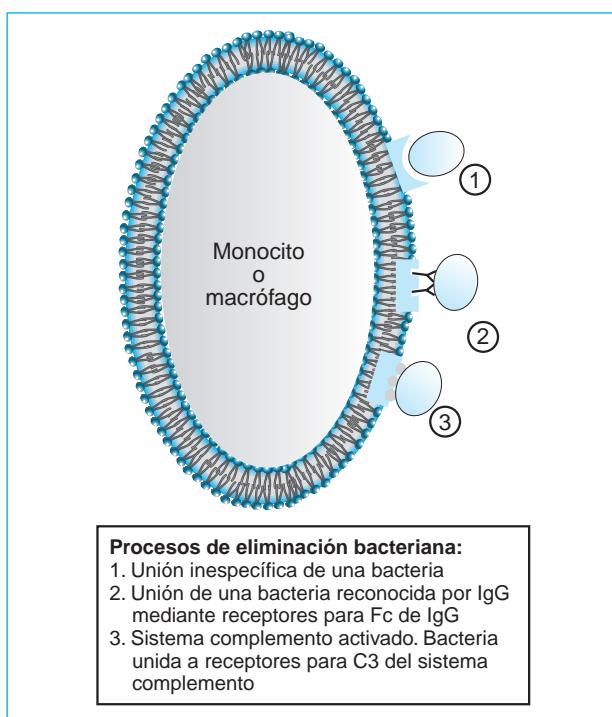


Figura 31-7. Receptores de membrana de las células fagocitarias (monocitos o macrófagos) capaces de iniciar el proceso de eliminación de microorganismos bacterianos, opsonizados o no.

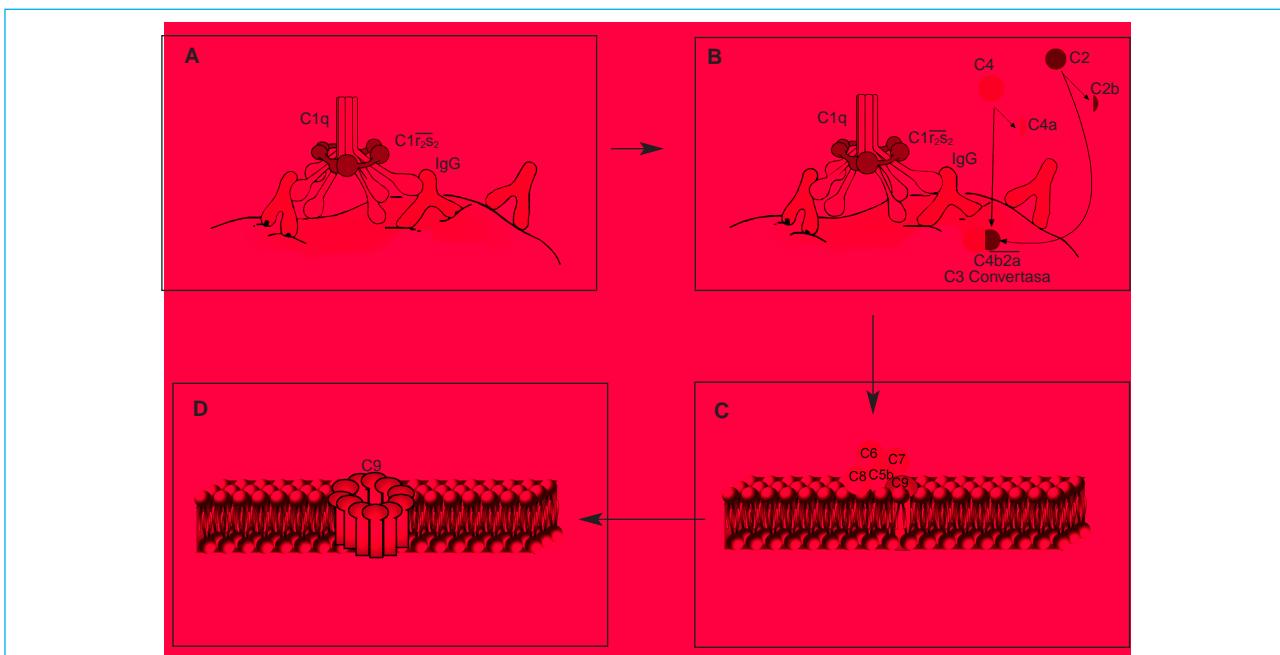


Figura 31-8. Activación del sistema del complemento por la vía clásica. (A): Unión de C1q al dominio C_{H2} de la IgG y activación de C1r y C1s. (B): Fragmentación de C4 en C4b y C4a, (C4b se une covalentemente a la membrana celular) y de C2 en C2a y C2b. C4b2a tiene actividad C3 convertasa, que rompe C3 en C3b y C3a. Se forma C4b2a3b, que tiene actividad C5 convertasa (rompe C5 en C5b y C5a). (C): C5b se une a C6 y C7, que se insertan de modo transitorio en la membrana y atraen a C8, que se ancla en la membrana e induce la polymerización de C9 (D), que forma poros en la membrana y ocasiona la muerte celular.

un determinado antígeno ubicado, por ejemplo, en la superficie celular de una bacteria. El complejo es reconocido por la primera de las proteínas del sistema de complemento, la C1, que está formada por varias unidades de diferentes proteínas, C1q, C1r y C1s (Fig. 31-8A).

La fijación libera actividades proteolíticas de C1r y C1s, que conducen a la activación proteolítica secuencial en cascada de otras formas inactivas de los restantes componentes del sistema de complemento circulantes por la sangre, como la C2 y la C4. Una vez activadas, fragmentos de éstas (C4b2a) se unen formando la C3 convertasa, que rompe C3, dando lugar a la formación de otro complejo (C4b2a3b) o C5 convertasa, que hace lo propio sobre C5, y se acaba ensamblando el complejo de ataque de membranas, MAC, del sistema de complemento, formado por unas 20 unidades de sus componentes finales, de la C5 a la C9 (Fig. 31-8Bb y C).

El resultado es que la membrana celular termina horadada por la polymerización de C9, mediante la formación de numerosos «poros» en la misma (Fig. 31-8D). La membrana deja de cumplir sus funciones y la célula muere. El sistema del complemento también promueve la fagocitosis, a través de la unión covalente de fragmentos de degradación de C3 y C4 a microorganismos, los cuales son reconocidos por receptores para los mismos que se expresan en la membrana de células fagocitarias, fundamentalmente, macrófagos (Fig. 31-7).

31.6 ANTÍGENOS DE HISTOCOMPATIBILIDAD

31.6.1. Generalidades

Cada vez son más frecuentes los trasplantes de tejidos como tratamiento de enfermedades que no pueden curarse por métodos terapéuticos convencionales; sin embargo, aparte de los riesgos quirúrgicos que se enfrentan en el proceso de implante, el paciente debe superar otro riesgo postoperatorio, a veces, mucho mayor, el del rechazo, que tiene lugar cuando el sistema inmunitario reconoce como extrañas las células del tejido transplantado y las ataca.

La causa de este fenómeno reside en que todas las células poseen, ubicadas en sus membranas, un grupo de moléculas específicas, a modo de huellas digitales, reconocibles como propias por las células del sistema inmunitario. Pero si proceden de otro organismo, aunque sea de la misma especie, son señaladas como extrañas y atacadas por dicho sistema. Esas moléculas se denominan *antígenos de histocompatibilidad*, y son el producto de la expresión de un complejo genético denominado complejo principal de histocompatibilidad o *MHC* (*major histocompatibility complex*), que todos los vertebrados poseen. Los estudios más completos sobre estas proteínas y los genes que las codifican se han efectuado en el ratón y, posteriormente, en los seres humanos. En ambos casos, existen mapas genéticos de los respectivos MHC, con semejanza estructural (Fig. 31-9).

En el ratón, el complejo también conocido como H-2, está situado en el cromosoma 17, ocupa unas 4 Mpb de ADN y se subdivide en regiones denominadas K, A, E, D y L. Entre K y A existen otros genes denominados M y LMP/TAP (Fig. 31-9), que son accesorios y cuya función se expone en el apartado 31.8.1.

Las moléculas de histocompatibilidad se clasifican en *clase I*, que son proteínas intrínsecas de membrana implicadas en reacciones de reconocimiento que permiten distinguir entre lo propio y lo ajeno; en *clase II*, que son proteínas que se expresan principalmente en las células denominadas *presentadoras de antígenos*, directamente relacionadas con la puesta en marcha de la respuesta inmunitaria; y las de *clase III* que son componentes entre otros, del ya descrito sistema de complemento. En sentido 3' del complejo MHC, se encuentran genes que codifican proteínas estructuralmente muy relacionadas con los antígenos de trasplante (que son de clase I), que se denominan moléculas MHC de clase I no clásicas y son mucho menos polimórficas (véase más adelante).

En los seres humanos, el complejo MHC se encuentra ubicado en el cromosoma 6, abarca unas 6 Mpb de ADN y recibe el nombre de *complejo HLA* (antígenos de leucocitos humanos, del inglés *human leukocyte antigens*) (Fig. 31-9b). Análogamente al ratón, esta región codifica los antígenos del trasplante, las moléculas MHC de clase I (en los seres huma-

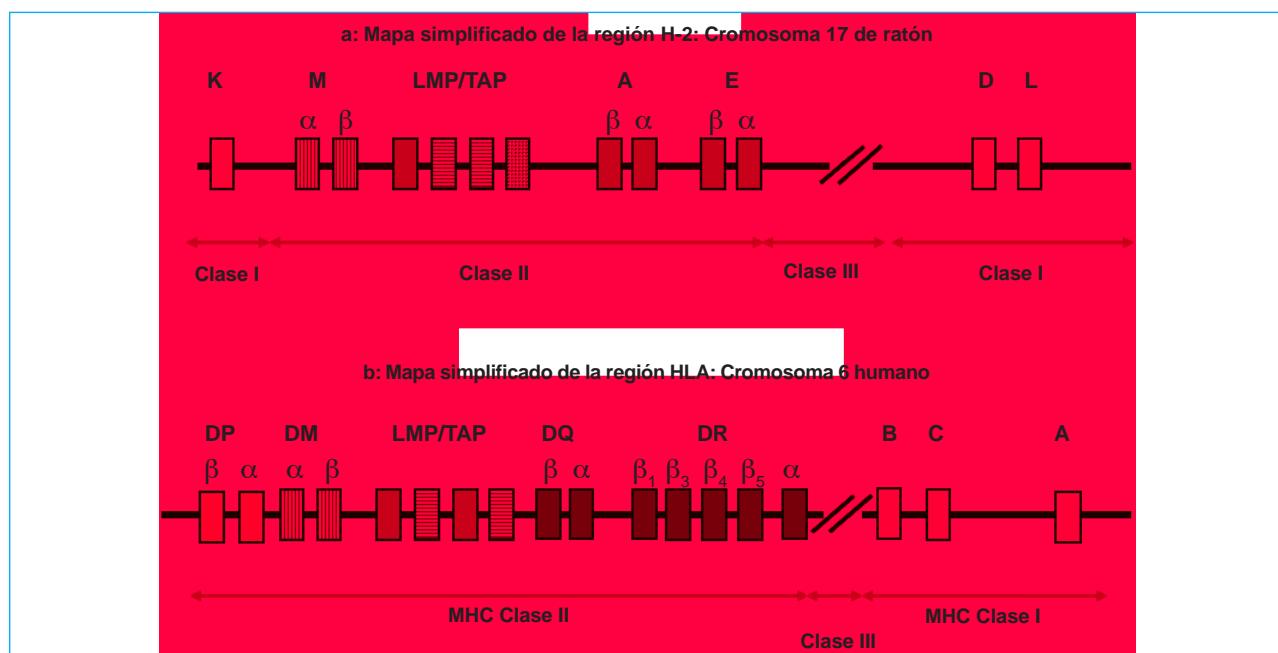


Figura 31-9. Mapas genómicos del Complejo Mayor de Histocompatibilidad de ratón (a, H-2) y humano (b, HLA), mostrando los genes principales y las clases de moléculas. Referido al complejo humano, las proteínas HLA-A, HLA-B y HLA-C, por un lado, y las HLA-DP, DQ y DR, por otro, muestran gran polimorfismo. Las proteínas codificadas por genes DM y LMP/TAP son menos polimórficas y participan en la preparación de la presentación de antígenos.

nos, las HLA-A, HLA-B y HLA-C), presentes en todas nuestras células y moléculas MHC de clase II (HLA-DP, HLA-DQ y HLA-DR), existentes en la superficie de las células del sistema inmunitario presentadoras de antígeno: monocitos/macrófagos, linfocitos B y células dendríticas.

31.6.2 Función de los antígenos de histocompatibilidad en la respuesta inmunitaria

En los vertebrados, la protección immunológica se lleva a cabo gracias a un sistema dual, de naturaleza adaptativa: uno de ellos se desencadena gracias a la acción de células (*respuesta inmunitaria celular*), y es particularmente efectivo contra los microorganismos intracelulares, las células cancerosas y los tejidos extraños, mientras que el otro está mediado por la acción de anticuerpos secretados al efecto, por lo que se llama *respuesta inmunitaria humoral*, al estar los anticuerpos circulando en los líquidos corporales, principalmente la sangre. Esta respuesta inmunitaria humoral defiende contra las fases extracelulares de las infecciones, bacterianas o virales.

La respuesta celular está mediada por los linfocitos T, mientras que la humoral está más relacionada con los linfocitos B y las células plasmáticas.

Los antígenos de histocompatibilidad son proteínas intrínsecas, firmemente ancladas en la membrana de las células en las que se expresan, con la finalidad de establecer relaciones con otras células, con vistas al reconocimiento antígenico de éstas y la detección de alteraciones en su

superficie, como las provocadas por la aparición de proteínas oncogénicas. Están, por tanto, directamente relacionados con la respuesta inmunitaria celular, aunque, en realidad, la sinergia que manifiesta el sistema dual está muy relacionado con la existencia de 2 clases de moléculas MHC, la I y la II.

31.6.3 Estructura de los antígenos de histocompatibilidad

Moléculas MHC de clase I

Son glicoproteínas de membrana compuestas de una cadena α de masa molecular 45 kDa, que se asocian de forma no covalente con la molécula β_2 -microglobulina (Fig. 31-10). La cadena α es muy polimórfica, especialmente en los sitios de unión al péptido antígenico y al receptor antígenico del linfocito T (TcR, apartado 31.7.2). La cadena α pertenece a la superfamilia de las Ig, y tiene tres dominios α_1 , α_2 y α_3 . La estructura tridimensional muestra una hendidura formada por los dominios α_1 y α_2 , que configuran una base formada por fragmentos de lámina β antiparalela, flanqueada por dos fragmentos de hélice α (Fig. 31-10). Esta hendidura tiene unas dimensiones adecuadas para albergar péptidos pequeños (de 9-11 aminoácidos). Las moléculas de clase I que expresa cada célula no son iguales.

Existen varias versiones o isotipos para cada clase de moléculas MHC, que están codificadas por genes diferentes del complejo, y todas coexisten simultáneamente en la membrana de la misma célula.

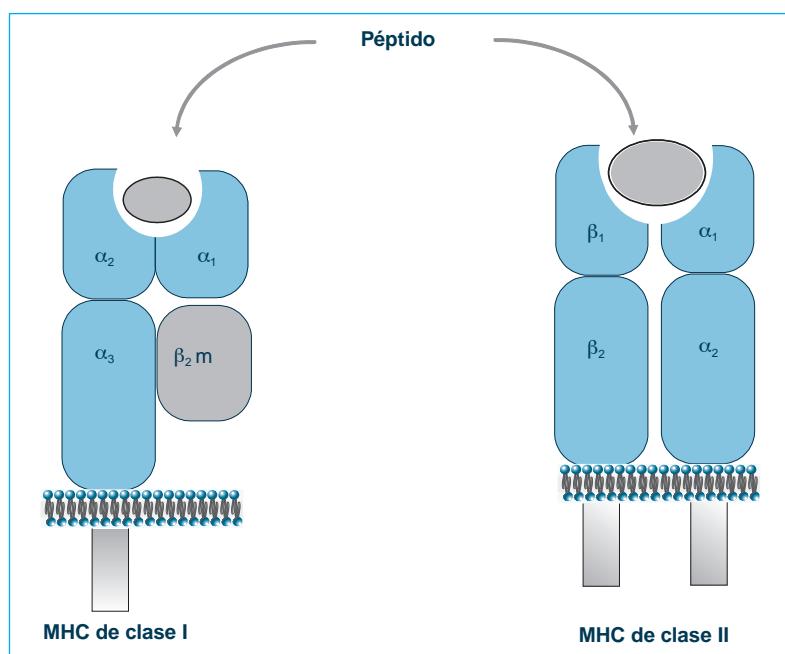


Figura 31-10. Representación esquemática de la composición de una molécula de histocompatibilidad de clase I y de clase II, mostrando los diferentes dominios de las cadenas α y β extracitosómicos. Los dominios α_3 y β_2 -microglobulina en las de clase I y α_2 y β_2 en las de clase II se pliegan según el patrón de la superfamilia de las inmunoglobulinas.

En los seres humanos, las versiones de las moléculas de clase I se denominan HLA-A, HLA-B y HLA-C. Además, cada célula expresa dos moléculas HLA-A (dos alotipos), dos HLA-B y dos HLA-C, puesto que una proviene de los genes paternos y otra, de los maternos y su expresión es codominante. A su vez, cada isotipo de molécula de histocompatibilidad tiene un gran polimorfismo (muchos alotipos) en la población, por lo que en su conjunto, el polimorfismo de las moléculas de histocompatibilidad es extraordinario (hasta siete millones de combinaciones posibles).

Moléculas MHC de clase II

Son glicoproteínas de membrana formadas por dos cadenas α y β , que también pertenecen a la superfamilia de las Ig. Cada cadena consta de dos dominios: α_1 , α_2 y β_1 , β_2 , respectivamente (Fig. 31-10). Los dominios que configuran la hendidura que aloja al péptido son los α_1 y β_1 . La estructura tridimensional es similar a las de Clase I, pero la configuración de la hendidura es algo distinta, lo que determina que los péptidos antigenicos que se alojan en moléculas de clase II

sean algo mayores (de hasta 30 aminoácidos). A su vez, cada variante puede presentar distintos péptidos, y existe bastante diversidad o flexibilidad si se cumplen unos requisitos mínimos. En el ser humano las versiones de las moléculas de clase II se denominan HLA-DR, HLA-DP y HLA-DQ, y al igual que las de clase I, las de clase II, también son polimórficas.

31.7 TIPOS DE LINFOCITOS Y RECONOCIMIENTO ANTIGÉNICO DEL LINFOCITO T

La dualidad de la respuesta inmunitaria antes comentada se debe a la existencia de dos grandes grupos de poblaciones de células del sistema inmunitario, morfológicamente indistinguibles y genéticamente conocidas como *linfocitos* (Fig. 31-11), uno de los cuales, los *T*, incluye las células ejecutoras de la respuesta inmunitaria celular: cuando el organismo es invadido por una sustancia extraña que puede alterar determinadas características superficiales normales de la célula

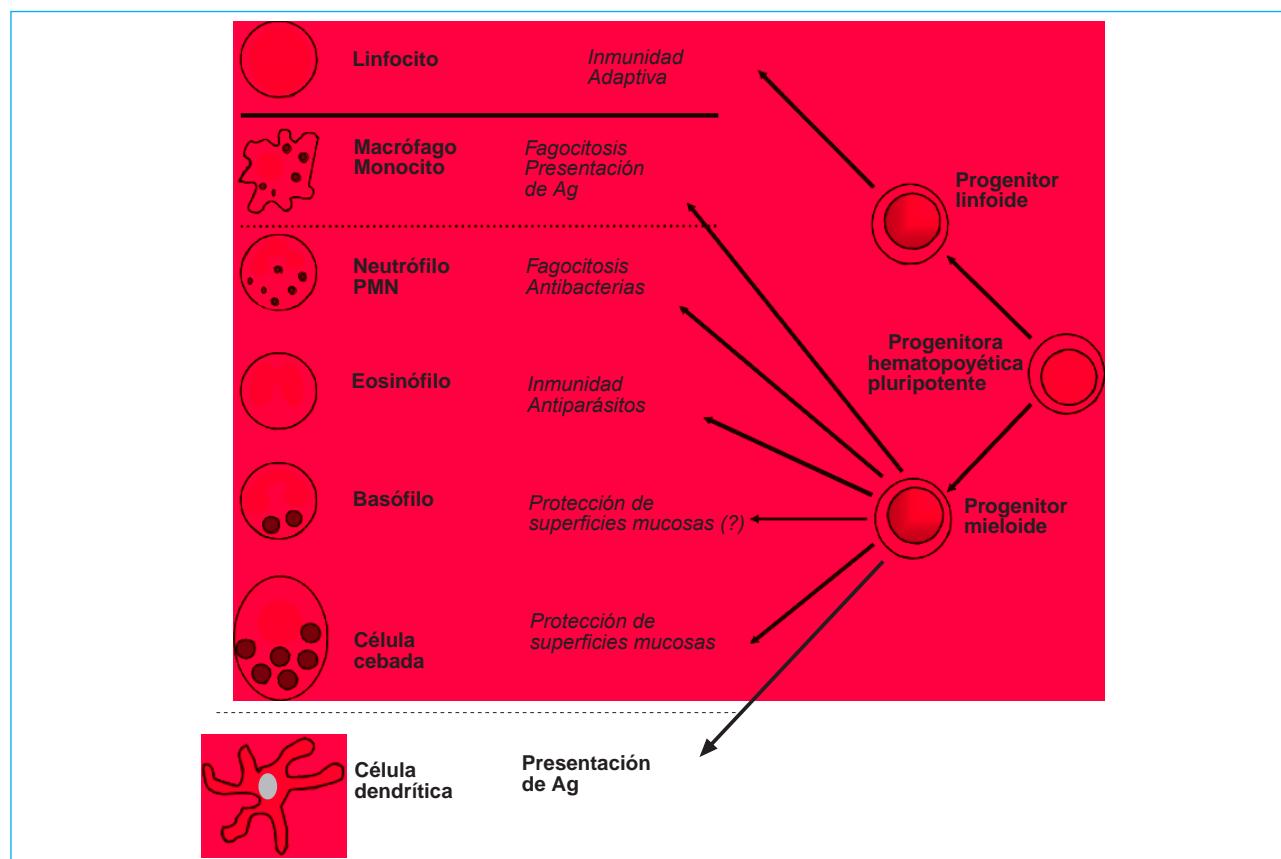


Figura 31-11. Origen y tipos de las células que participan en la respuesta inmunitaria. La célula hematopoyética pluripotente (derecha) da lugar a progenitores mieloideos, que luego originan los diferentes tipos celulares con funciones fagocíticas y protectoras y a progenitores linfoides, que dan lugar a los linfocitos.

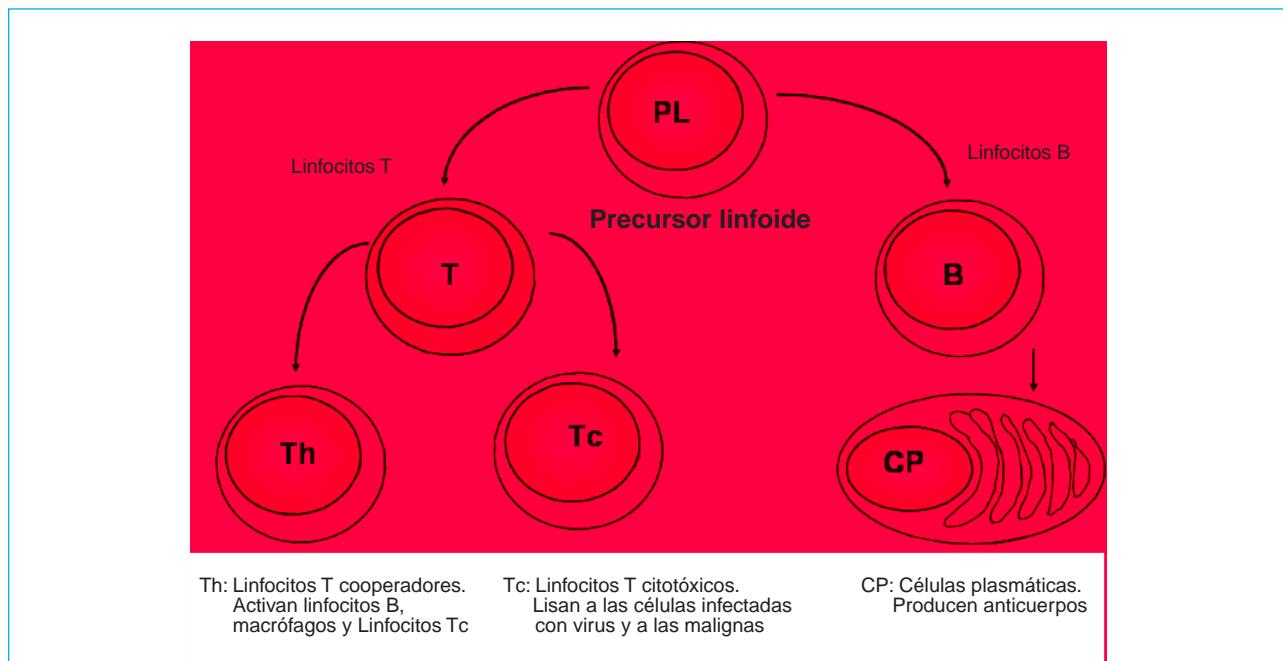


Figura 31-12. Subpoblaciones de linfocitos, después de la diferenciación del precursor linfoide. Los linfocitos B maduran a células plasmáticas, que ya tienen capacidad de secretar anticuerpos solubles, esenciales para la inmunidad humoral. Los linfocitos T se diferencian en dos grandes grupos, los cooperadores (Th) y los citotóxicos (Tc), que expresan, respectivamente, CD4 o CD8.

hospedadora, algunos de estos linfocitos T, que reconocen al invasor, son activados e inician reacciones que incluyen su enlace a las células alteradas y la eliminación posterior de las mismas. La otra clase de *linfocitos*, los *B*, son responsables de la puesta en marcha de la respuesta inmunitaria humoral, pues, al activarse por el reconocimiento de un antígeno extraño, maduran, se convierten en las denominadas células plasmáticas y secretan anticuerpos específicos contra el antígeno en cuestión (Fig. 31-12).

31.7.1 Funciones de los linfocitos T

Los linfocitos T tienen, en primer lugar, funciones de cooperación con otras células (ejercida de modo fundamental por medio de interacciones célula/célula y producción de citocinas en células, en general, o interleuquinas (IL), en linfocitos, véase el Cap. 27). Así cooperan con el linfocito B para que éste se active y se diferencie en célula productora de anticuerpos (respuesta humoral). También, cooperan con el macrófago, aumentando su capacidad microbicida, y con el linfocito T citotóxico, incrementando su capacidad lítica (respuesta celular).

Los linfocitos T también tienen funciones efectoras, como es la capacidad de destruir células, ejercida por el linfocito T citotóxico. A estos últimos también se les atribuye

funciones supresoras, aunque el fenómeno de supresión, específico de antígeno no ha podido ser demostrado. Los fenómenos de supresión de la respuesta inmunitaria son debidos predominantemente a acciones opuestas de distintas citocinas; así, por ejemplo, el interferón IFN γ (implicado en respuestas de tipo celular) bloquea el efecto de la IL-4; y, a su vez, la IL-4 e IL-10 (implicadas en respuestas humorales) bloquean la producción del IFN γ .

Pero, en cualquier caso, los linfocitos T no son capaces de reconocer epítopos en antígenos naturales extracelulares o solubles, sino que reconocen péptidos antigenéricos en la superficie de una célula propia. Las células presentadoras de antígeno captan el antígeno por fagocitosis o endocitosis, lo degradan en péptidos en los lisosomas o endosomas y lo exportan a la membrana plasmática, alojado en moléculas del MHC de clase II. Los linfocitos T CD4 $^{+}$ (un tipo de linfocitos que expresa una clase determinada de complejo proteico, *CD*, o *Cluster de Diferenciación*, apartado 31.7.3) reconocen el complejo formado por el péptido antigenérico y la molécula de MHC de clase II.

A su vez, los péptidos antigenéricos procedentes de la vía endógena (p. ej., virus, oncogenes) se unen en el retículo endoplásmico de la célula a moléculas de MHC de clase I y se exportan a la membrana plasmática de la célula, donde pueden ser reconocidos por linfocitos T CD8 $^{+}$.

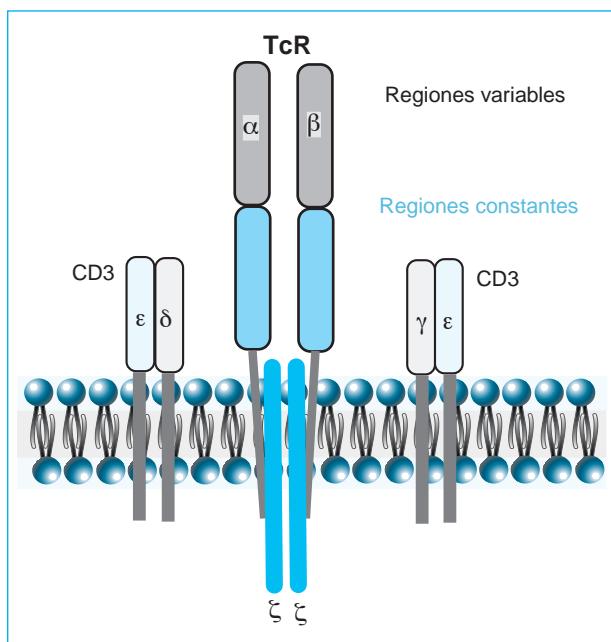


Figura 31-13. Representación esquemática del heterodímero núcleo del receptor antigenólico del linfocito T (TcR), y las moléculas que lo acompañan, los dímeros CD3 y las cadenas ζ , que conectan el receptor con los sistemas de transducción de señales al interior del linfocito T.

31.7.2 Receptor antigenólico del linfocito T (TcR)

Este receptor es clave para toda respuesta de inmunidad celular. El TcR funcional es un complejo de varias proteínas que se esquematiza en la Figura 31-13, pero su núcleo principal está formado por un heterodímero de dos cadenas polipeptídicas polimórficas (α y β) unidas por un puente disulfuro. Una minoría de linfocitos T expresan dos cadenas polimórficas distintas $\gamma\delta$ y no expresan ni receptores CD4 ni CD8, pero no se conoce la naturaleza de los antígenos reconocidos por el TcR $\gamma\delta$, ni las moléculas que los presentan. Tanto las cadenas del TcR $\alpha\beta$, como las excepcionales $\gamma\delta$, pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas.

De modo similar a las Ig, presentan dominios variables V y constantes C y su diversidad también se origina porque están codificadas por genes V que proceden de la reordenación somática de regiones variables (V), de unión (J) y, en algunos casos, de diversidad (D) y constantes (C). Los dominios V son los encargados de llevar a cabo el reconocimiento del antígeno presentado por la molécula de histocompatibilidad. Pero en este reconocimiento no hay división de funciones: ambas cadenas α y β participan en los contactos con el antígeno y con la molécula de histocompatibilidad.

Los dominios constantes transmiten la señal a otras proteínas monomórficas del complejo TcR cuando se produce el

reconocimiento antigenólico, para que éstas informen al interior celular por un sistema de transducción de señales. Entre estas proteínas se encuentran las CD3 que son marcadores muy útiles para identificar a todos los linfocitos T. Tres de las proteínas CD3 son similares entre sí, pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas y se denominan CD3 γ , CD3 δ y CD3 ϵ , que se sitúan en forma dimérica hacia el exterior celular, flanqueando el heterodímero de TcR principal (Fig. 31-13). Estas proteínas poseen también dominios intracitosólicos con secuencias de activación basadas en tirosinas denominadas ITAM (*immunoreceptor tyrosine-based activation motifs*).

Finalmente, otra cadena monomórfica del complejo TcR funcional es la ζ que se asocia al complejo TcR en forma de dímeros $\zeta\zeta$, y que también participa en la transmisión de señales al interior del linfocito T. En resumen, por tanto, los linfocitos T reconocen antígenos a través de complejos de proteínas de membrana (complejos TcR). Existen 2 tipos de receptores, según el heterodímero principal sea $\alpha\beta$ mayoritario o el $\gamma\delta$ minoritario, que nunca coexisten en una misma célula.

31.7.3 Otras moléculas accesorias del reconocimiento

Cuando el linfocito T se aproxima a una célula para inspeccionar con su complejo TcR las moléculas de histocompatibilidad de dicha célula lo hace en dos fases consecutivas. Una primera fase es de adhesión inespecífica, en la que participan un conjunto de moléculas monomórficas a las que se denomina accesorias. Estas moléculas mantienen la interacción y proximidad entre los dos tipos celulares para que tenga lugar la segunda fase, de reconocimiento específico por el TcR.

Las moléculas accesorias pertenecen a dos categorías: en primer lugar, se encuentran el CD4 y el CD8, que podríamos denominar correceptores, porque al igual que el TcR tienen como ligando a las moléculas de histocompatibilidad de la célula presentadora de antígeno o de la célula diana, respectivamente. A diferencia del TcR, estas moléculas son monomórficas. CD4 y CD8 se expresan en subpoblaciones distintas de linfocitos T maduros. CD4 interacciona con moléculas de histocompatibilidad de clase II, mientras que CD8 interacciona con MHC1 (Fig. 31-14). Por tanto, los linfocitos T CD4 $^{+}$ reconocerán péptidos antigenicos presentados en MHC II y son del tipo Th o cooperadores, mientras los linfocitos T CD8 $^{+}$ reconocerán péptidos antigenicos presentados en MHC I y son del tipo Tc o citotóxicos.

La segunda categoría de moléculas accesorias la constituyen todas aquellas que reconocen ligandos distintos de las moléculas de histocompatibilidad. Muchas de ellas funcionan como moléculas de adhesión, otras, como moléculas de

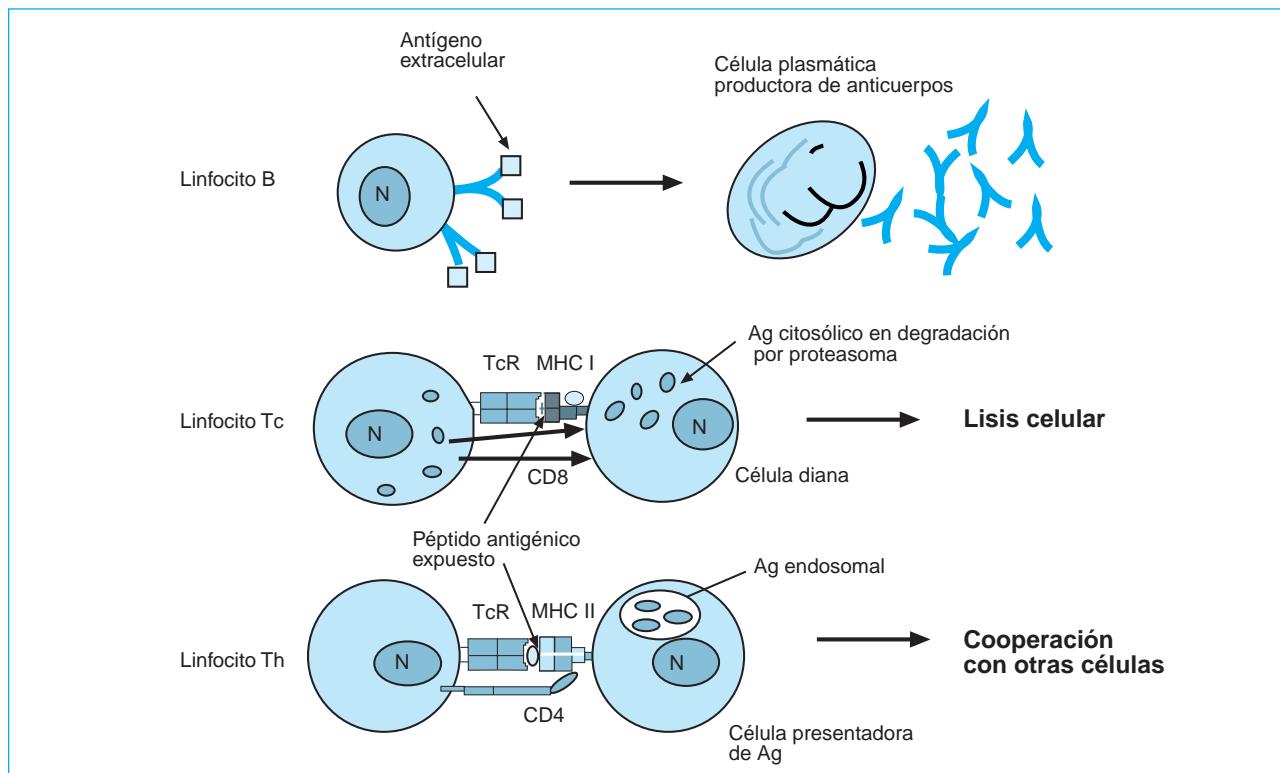


Figura 31-14. Especialización de los linfocitos en el reconocimiento de antígenos: los linfocitos B reconocen los extracelulares y los linfocitos T, los intracelulares. El linfocito B reconoce antígenos con su receptor BcR y madura a un clon de células plasmáticas que secretan grandes cantidades de Ig soluble contra ese Ag. Los linfocitos T reconocen péptidos procedentes de proteínas endógenas (procesamiento citosólico) presentados por moléculas MHC I (en células diana de cualquier tipo), o péptidos procedentes de proteínas exógenas procesadas en el endosoma y presentados por moléculas MHC II (en células presentadoras de antígeno). Los primeros son reconocidos por linfocitos T CD8⁺ (citotóxicos) y los segundos por linfocitos T CD4⁺ (cooperadores). La interacción es dual. Por una parte, TcR reconoce el péptido antigenérico y las moléculas de histocompatibilidad que lo presentan, MHC I o MHC II. Por otra, además de las diferencias en el origen y tamaño del péptido antigenérico, el reconocimiento se basa en el CD que expresa el linfocito, los T CD8⁺ para péptidos presentados por moléculas MHC I y los linfocitos T CD4⁺ para péptidos presentados por moléculas MHC II.

activación y en otros casos no se conoce exactamente su papel biológico concreto. Atendiendo a la secuencia, las moléculas accesorias se pueden clasificar en diferentes familias proteicas: como las inmunoglobulinas (CD4, CD8, CD2, CD28), integrinas (CD11a/CD18, CD49d/CD29) y mucinas (CD43, CD45).

31.8 PRESENTACIÓN DE ANTÍGENOS A LOS LINFOCITOS T

Antes de que una proteína pueda ser detectada y reconocida por un linfocito T como extraña, ésta tiene que ser degradada o procesada de forma adecuada, ya que los linfocitos T sólo son capaces de reconocer péptidos cortos (de unos 8 a 30 aminoácidos). Además, los linfocitos T necesitan la ayuda de las moléculas de histocompatibilidad, ya que los péptidos

que reconocen deben estar presentados por estas moléculas, y no son reconocidos si están libres.

31.8.1 Presentación de antígenos en moléculas MHC de clase I

Como ya se expuso en los apartados 31.6.3.1 y 31.6.3.2, el tamaño de los péptidos que pueden unirse a las moléculas de clase I o de clase II es distinto, a causa de las diferencias estructurales del locus de unión del péptido en ambos tipos de moléculas. Pero existe, además del tamaño, otra diferencia fundamental entre ambos tipos de péptidos. Los que se unen a moléculas de clase I provienen de proteínas sintetizadas por la propia célula que los presenta (endógenas, aunque sean de origen viral) y se trata casi siempre de proteínas citosólicas. En cambio, los péptidos que se unen a moléculas de clase II suelen tener su origen en proteínas exógenas, es

decir, que no han sido sintetizadas por la propia célula presentadora.

Se conocen dos rutas intracelulares para la generación del complejo péptido-MHC, dependiendo de si la molécula MHC es de clase I o de clase II. En el primer caso, las cadenas α de las moléculas de clase I aparecen en el RE a medida que van siendo sintetizadas, donde se unen rápidamente a la β_2 -microglobulina y a los péptidos antigenicos disponibles en el RE. Estos péptidos son generados en el citosol celular, a partir de proteínas que son degradadas por el principal sistema proteolítico citosólico, el proteasoma (véase el Cap. 16). Los genes LMP2 y LMP7 (proteosoma multifuncional grande, del inglés *large multifunctional proteasome*), que están también localizados en la región de MHC clase II (Fig. 31-9), codifican sendas proteínas que forman parte del proteasoma.

Pero los péptidos son incapaces de atravesar las membranas biológicas por difusión pasiva, por lo cual no podrían introducirse en el RE sin la valiosa ayuda de las proteínas TAP (Transportadores Asociados con el Procesamiento de Antígenos). Los polipéptidos TAP, que están codificados por dos genes localizados dentro de la región MHC de clase II (TAP1 y TAP2, Fig. 31-9), se asocian para formar dímeros, cuya función consiste en transportar los péptidos generados en el citosol hacia el interior del RE, en una forma de tráfico intracelular específica para estos fragmentos (véase el Cap. 26).

En el RE, las moléculas de clase I interactúan con la β_2 -microglobulina y el péptido correspondiente y así migran al aparato de Golgi para sufrir modificaciones posttraduccionales (véase el Cap. 26). Posteriormente, las moléculas de clase I ya maduras, se dirigen hacia la membrana plasmática siguiendo la ruta de exocitosis común a otras proteínas secretoras y de membrana. En condiciones normales, las moléculas de clase I no tienen el *locus* de presentación vacío, sino que contienen péptidos propios, que provienen de proteínas codificadas por genes celulares. En este caso, los linfocitos T los reconocen como propios y no generan una respuesta citolítica. En el caso de que las moléculas de clase I contengan péptidos extraños, por ejemplo, de una proteína viral de un virus que se está replicando, los linfocitos T destruyen la célula para evitar la propagación del virus.

31.8.2 Presentación de antígenos en moléculas de clase II

A diferencia de las moléculas de clase I, las moléculas de clase II son capaces de presentar péptidos procedentes de proteínas exógenas, generalmente de patógenos fagocitados por macrófagos o endocitados por células dendríticas o linfocitos B. Durante su biosíntesis en el RE, las cadenas α y β se asocian rápidamente para producir moléculas MHC de clase II. Algunos de estos heterodímeros son capaces de unirse a los

péptidos presentes en el RE y salir hacia el exterior por la ruta exocítica (igual que las moléculas de clase I). Sin embargo, las moléculas de clase II se asocian rápidamente en el RE con una tercera proteína, conocida como cadena invariante.

Esta cadena acompañará a las moléculas de clase II en su periplo celular con una doble misión: bloquear el sitio de unión del péptido y retener el complejo dentro de la célula, desviándolo hacia la ruta endocítica. En esta ruta, las moléculas de clase II aparecen en compartimentos celulares especiales, denominados CPL (compartimientos de carga de péptidos, del inglés, *compartment peptide loading*) que tienen características diferentes de los endosomas convencionales. Este compartimento vesicular contiene proteínas extracelulares y presenta un pH ácido con una actividad proteolítica alta. La cadena invariante comienza a ser degradada en este medio ácido y continúa, a medida que los complejos de clase II se desvían a los CPL desde la ruta de endocitosis. En los CPL, la mayor parte de la cadena invariante está ya degradada y solamente permanece unido a las moléculas de clase II un trozo de la misma, un pequeño péptido denominado CLIP, que ocupa precisamente la hendidura de unión al péptido. Este péptido debe ser reemplazado por los péptidos endosomales que han de ser presentados en la clase II.

El intercambio de CLIP por péptidos endosomales se facilita por la acción de la molécula HLA-DM, un heterodímero codificado por genes del complejo MHC (Fig. 31-9) formado por dos cadenas, α y β , de estructura parecida a las otras moléculas MHC de clase II, aunque no se exporta a la membrana, ni presenta péptidos a los linfocitos T. Su función es facilitar la liberación de CLIP de las moléculas de clase II cuando éstas se localizan en el endosoma. Las proteínas antigenicas también son desviadas a esta ruta endosómica, sufriendo una degradación proteolítica que genera péptidos, con características adecuadas para unirse a MHC de clase II. Una vez cargadas de péptido las moléculas de clase II son transportadas a la superficie celular para presentar dichos péptidos a los linfocitos T cooperadores.

31.9 RESTRICCIÓN POR MHC

Antes de conocerse la naturaleza dual y multicomponente de la interacción MHC-péptido-TcR, esquematizada en la Figura 31-14, se observó que la respuesta de los linfocitos T estaba restringida a la presentación de antígenos por células singénicas. Es decir, los linfocitos T de un animal inmunizado sólo reconocen el antígeno en presencia de células presentadoras de antígeno del mismo animal; y no reconocen el mismo antígeno en presencia de células presentadoras de antígeno alogénicas (de otro animal de la misma especie). Hoy sabemos que el fenómeno de restricción por MHC se

debe a la selección del repertorio de linfocitos T que ocurre en el timo, por la cual se seleccionan aquellos tipos que reconocen moléculas de MHC propias; de manera que el reconocimiento de antígeno por el TcR se realiza de manera conjunta de la molécula de MHC de clase II, más el péptido antigénico, en los linfocitos T CD4⁺, y de MHC de clase I, más el péptido antigénico, en los linfocitos T CD8⁺.

Normalmente, este sistema es capaz de distinguir entre las células propias sanas y las propias infectadas o las extrañas, para cuya eliminación pone en marcha la respuesta inmunitaria. No obstante, existe un notable y creciente catálogo de enfermedades autoinmunitarias, que se desencadenan cuando, por error, el sistema inmunitario reconoce células propias como extrañas (son ejemplos la diabetes mellitus

de tipo I en el Recuadro 31-1 o la fiebre reumática). Asimismo, se pueden desencadenar respuestas inmunitarias desproporcionadas frente a antígenos inocuos, dando lugar a las reacciones de hipersensibilidad, como es el caso de las alergias que pueden desencadenar respuestas asmáticas, dermatitis por contacto, etcétera.

31.10 EL VIH Y LA NEUTRALIZACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNITARIA

Dado el papel central que desempeñan los linfocitos T CD4⁺ en el desarrollo de la respuesta inmunitaria, es evidente que su neutralización supondrá un grave problema

Recuadro 31-1. UNA ENFERMEDAD AUTOINMUNITARIA: LA DIABETES MELLITUS DE TIPO I

Es la forma más grave de diabetes y, aunque afecta ya a un número considerable de personas (casi un 0.3% de la población mundial), tiende a extenderse. La enfermedad, que era mortal a principios del siglo xx, se puede tratar mediante la inyección, varias veces al día de por vida, de insulina exógena. A la larga, suelen aparecer ciertas secuelas, debidas al daño que sufren los vasos sanguíneos, lo que origina cardiopatías, parálisis, ceguera, disfunciones renales, entre otras afecciones. Otro aspecto relevante de esta enfermedad es que la mayor parte de las personas a las que se les diagnostica son jóvenes menores de 30 años, razón por la que se ha llamado *diabetes juvenil*.

La dolencia la origina un ataque autoinmunitario a las células β de los islotes de Langerhans, dispersos por todo el páncreas, que vienen a suponer una de cada cuatro células de dichos islotes. Al destruirse estas células, que son las que producen *insulina*, la hormona no se fabrica, se acumula glucosa en la sangre y el organismo se deshidrata, como consecuencia del esfuerzo renal realizado para expulsar el exceso en la orina. Las células del cuerpo ayunan, en un auténti-

co mar de abundancia de glucosa; degradan incontroladamente sus reservas de lípidos y proteínas para proveerse de la energía que precisan, lo que origina una intensa cetogénesis hepática, y un nivel elevadísimo de cuerpos cetónicos en sangre, que puede desembocar en el coma y la muerte. Inyectando insulina, el círculo vicioso se detiene, aunque la inyección periódica no puede sustituir perfectamente al modelo normal de secreción de la hormona por el páncreas, por lo que se pueden producir desarreglos que van deteriorando los vasos de los tejidos.

La enfermedad se incuba silenciosamente, incluso durante años, en los que el sistema inmunitario va destruyendo progresivamente las células β. Los síntomas sólo aparecen cuando se ha destruido más del 80% de las mismas; el resto, se destruirán en los 2 ó 3 años siguientes.

Los linfocitos T citotóxicos son los principales causantes de la muerte celular. ¿Por qué? La teoría más verosímil es que la autoinmunidad la provoca un proceso de mimetismo molecular: un antígeno extraño, de un virus u otro microorganismo, con una conformación o una composición química gemela a la de algún componente de las células β, que podría desencadenar un ataque del sistema inmunitario contra ese antígeno propio, al mismo tiempo que contra el ajeno.

Así pues, cuando algún agente mimético dispara la respuesta inmunitaria

(mediada por células?) contra las células β, el ataque se mantiene en el tiempo como si estuviesen infectadas por un virus; por otro lado, dicho ataque es incluso mucho más agresivo de lo habitual, porque las células β tienden a exponer, cuando están dañadas, un número excesivo de antígenos de histocompatibilidad de clase I y porque, además, parece fallar el mecanismo de supresión natural de respuestas autoinmunitarias.

Se trabaja intensamente para dilucidar qué proteína de las células β es la que activa el ataque autoinmunitario. Hace algunos años se propuso que la enzima *glutamato descarboxilasa* (GAD) podría ser tal molécula y, recientemente, investigadores trabajando con ratones diabéticos manipulados genéticamente para no producir GAD, han logrado controlar la aparición de diabetes en dichos animales. En cuanto al tratamiento, ya se ha apuntado la posibilidad de trasplantar células β carentes de la enzima GAD, así como la de aplicar determinados tratamientos que «acostumbren» a los linfocitos Tc a tolerar a esta molécula, incluso en presencia del antígeno mimético extraño.

Estos trabajos, y otros similares, son prometedores porque van en la dirección de explicar esta enfermedad por la presencia de una sola molécula, lo que abre nuevos horizontes para el tratamiento de tan grave enfermedad.

para el sistema inmunitario. Esto es lo que ocurre en la infección por el VIH, un retrovirus causante del cúmulo de enfermedades conocido con el nombre de SIDA (véase el Cap. 28). Aunque también infecta los macrófagos, lo cual es un golpe adicional al sistema inmunitario, por la importantísima labor de éstos, son los linfocitos T cooperadores, la diana preferida del virus para invadir el organismo, ya que el receptor CD4 es utilizado por el virus para invadir la célula. De hecho, la fase aguda de la enfermedad es consecuencia de la destrucción masiva de linfocitos cooperadores

por el virus, cuando éste utiliza el material de dichas células para su propia proliferación, reduciendo su número hasta su práctica desaparición. Como las células CD4 son las que activan las células responsables de la respuesta inmunitaria, celular y humoral, su inexistencia anula la respuesta inmunitaria. El resultado es que hay infecciones por microorganismos oportunistas, que no prosperarían en un organismo con un número normal de linfocitos T CD4⁺, pero que se desarrollan en los individuos inmunodeprimidos por la infección del VIH.

RESUMEN

- La Inmunoquímica se dedica al estudio de las moléculas que participan en la respuesta inmunitaria.
- Un antígeno es una sustancia capaz de reaccionar con anticuerpos específicos. Un inmunógeno es una sustancia que, inoculada a un organismo apropiado, induce una respuesta inmunitaria específica.
- Los haptenos son moléculas pequeñas, que carecen de capacidad inmunógena, pero tienen capacidad antigénica. La capacidad inmunógena la adquieren cuando se unen a otras más grandes denominadas *carrier*.
- Las inmunoglobulinas (Ig) son glicoproteínas producidas por los linfocitos B como receptor antigénico que se expresa en su membrana (BcR), o como anticuerpos secretados por las células plasmáticas, que se unen de manera específica al antígeno y son las moléculas efectoras de la inmunidad humoral.
- Las inmunoglobulinas están formadas por dos cadenas ligeras (L) y dos cadenas pesadas (H) unidas por puentes disulfuro. Las cadenas pesadas y ligeras están compuestas por regiones constantes y variables. Los dominios de las Ig presentan estructuras similares. Las moléculas que presentan dominios de este tipo se agrupan en la Superfamilia de las Immunoglobulinas. El sitio de unión al antígeno (Fab) está formado por regiones localizadas en los dominios variables de las cadenas ligeras y pesadas, y dentro de éstos, por las zonas determinantes de complementariedad o regiones hipervariables.
- Existen cinco clases funcionales de anticuerpos denominados isotipos, cada uno de los cuales realiza funciones biológicas distintas y está codificado por un tipo diferente de gen de la región constante.
- Las interacciones antígeno-anticuerpo son altamente específicas e implican diversas fuerzas fisicoquímicas. El enlace antígeno-anticuerpo es no covalente y reversible, y sigue los principios termodinámicos básicos de cualquier interacción bimolecular reversible. La afinidad se define como una medida de la fuerza del enlace de un epítopo a un anticuerpo. La avidez es una medida de la estabilidad total del complejo Ag-Ac y está relacionada con la multivalencia del Ag y el Ac.
- La reacción Ag-Ac tiene importantes consecuencias biológicas: neutraliza el antígeno, opsoniza partículas infecciosas promoviendo la fagocitosis, activa el complemento, promueve reacciones citotóxicas y activa los mastocitos, entre otras.
- El complemento es un sistema de proteínas plasmáticas que interaccionan con agentes patógenos, marcándolos para que sean fagocitados por células especializadas, y provocando poros líticos en su membrana o ambos. La vía clásica se inicia por la formación de complejos Ag-Ac, y la vía alterna, por la presencia de componentes químicos de la superficie de las células microbianas.
- Las moléculas de histocompatibilidad son glicoproteínas expresadas en la membrana celular, cuya misión es presentar péptidos antigenicos. Las moléculas de clase I se expresan en todas las células nucleadas del organismo y presentan péptidos endógenos procedentes de proteínas citosólicas. Las moléculas de clase II se expresan en células presentadoras de antígeno y presentan péptidos procedentes de proteínas exógenas.
- Las moléculas codificadas por los genes MHC de clase I y II son altamente polimórficas. El polimorfismo del MHC afecta al reconocimiento del antígeno por los linfocitos T, ya que determina la unión de una gran variedad de péptidos y los contactos entre el receptor antigénico del linfocito T y la propia molécula MHC.
- Los linfocitos T poseen receptores de antígeno (TcR) similares a un fragmento Fab de las Ig. La generación de diversidad de los mismos tiene lugar por un mecanismo de reordenación somática similar al de los genes de las Ig.
- El receptor antigénico de los linfocitos T reconoce un complejo formado por un péptido antigenico unido a una molécula de MHC. Las células T se dividen funcionalmente en cooperadoras y citotóxicas y se distinguen por la expresión diferencial de los correceptores CD4 y CD8, respectivamente. Los linfocitos T CD4⁺ reconocen péptidos presentados en moléculas MHC II, mientras que los CD8⁺ reconocen péptidos presentados en moléculas MHC I.
- Los linfocitos T de un animal inmunizado sólo reconocen el antígeno en presencia de células presentadoras de antígeno del mismo animal; y no reconocen el mismo antígeno en presencia de células presentadoras de antígeno alogénicas (de otro animal de la misma especie). Esto se debe a la selección del repertorio de linfocitos T en el timo.

EVALUACIÓN

1. (A). La diferencia entre un antígeno y un inmunógeno es que:
 - a. Los antígenos son diana de la respuesta inmunitaria, mientras que los inmunógenos la inducen.
 - b. Los inmunógenos inducen inmunidad celular, mientras que los antígenos inducen inmunidad humorar.
 - c. Para inducir una respuesta inmunitaria, los inmunógenos necesitan unirse a una sustancia *carrier* y los antígenos no.
 - d. Todas las respuestas son verdaderas.
 - e. Solamente son correctas a y b.

2. (A). Sobre la estructura proteica de las inmunoglobulinas se puede decir que:
 - a. La componen 4 cadenas de glicoproteínas, iguales 2 a 2.
 - b. Los fragmentos denominados Fc y Fab se distinguen por su carga electrostática.
 - c. Tanto las cadenas pesadas, como las ligeras se componen de 5 dominios básicos de la superfamilia de las inmunoglobulinas.
 - d. Todas se pueden presentar en forma polimérica.
 - e. La función del fragmento Fc es irrelevante desde el punto de vista biológico.

3. (A). La afinidad de los anticuerpos depende de:
 - a. La existencia de múltiples sitios de unión al antígeno.
 - b. La fuerza de unión a receptores FcR.
 - c. La interacción entre un fragmento Fab y un determinado epítopo.
 - d. Las interacciones simultáneas múltiples entre varios epítopos y varios anticuerpos.
 - e. Todo lo anterior.

4. (A). La especificidad para un antígeno en un determinado linfocito B.
 - a. Se induce tras la interacción con el antígeno.
 - b. Está determinada por la secuencia de las cadenas L.
 - c. Está determinada por la secuencia de las regiones variables de las cadenas H y L.
 - d. Está determinada por la secuencia de las regiones constantes de las cadenas H.
 - e. Ninguna de las anteriores es correcta.

5. (A). Al examinar los genes de las Ig, en la línea germinal de una especie de mamífero, observamos que posee 200 regiones V (variables), 25 regiones J (de unión) y 4 regiones constantes (C), para la cadena pesada de las Ig y 100 regiones V, 30 regiones J y 2 regiones C para la cadena ligera. ¿Cuál es el número teórico de anticuerpos con especificidades diferentes que estos animales pueden formar?
 - a. 8000.
 - b. 26 000.
 - c. 15 millones.
 - d. 120 millones.
 - e. Ninguna de las anteriores.

6. (A). El proceso mediante el cual el complemento favorece la fagocitosis se denomina:
 - a. Opsonización.
 - b. Quimiotaxis.
 - c. Exocitosis.
 - d. Proteólisis.
 - e. Bacteriolisis.

7. (A). Los antígenos de histocompatibilidad de clase I:
 - a. Están formados por dos cadenas, alfa y beta, unidas por enlaces disulfuro.
 - b. Están compuestos de una cadena alfa formada por tres dominios, asociada a la β_2 -microglobulina.
 - c. La antigenicidad y la actividad biológica residen en el tercer dominio.
 - d. El polimorfismo se concentra en los dominios β_1 y β_2 .
 - e. Son correctas b y d.

8. (A). La proteína de membrana que se ocupa de presentar péptidos antígenicos en la superficie de una célula presentadora de antígeno profesional es el:
 - a. TcR.
 - b. MHC II.
 - c. IgA.
 - d. CD4.
 - e. CD8.

9. (A). El fenotipo $CD3^+ CD8^+$ es propio de:
 - a. Linfocitos T cooperadores humanos.
 - b. Macrófagos.
 - c. Linfocitos B de ratón.
 - d. Linfocitos T citotóxicos.
 - e. Cualquiera de los anteriores.

BIBLIOGRAFÍA

- Banchereau J: El largo brazo del sistema inmunitario. *Inv y C* 2003; enero: 22-29.
- Ezzell C: Presente y futuro de los anticuerpos monoclonales. *Inv y C* 2001; diciembre: 12-19.
- Ezzell C: Vacunas contra el SIDA. *Inv y C* 2002; agosto: 14-21.
- Kleanthous C, Walker D: Immunity proteins: enzyme inhibitors that avoid the active site. *TiBS* 2001; 26: 624-631.
- Langridge WHR: Vacunas comestibles. *Inv y C* 2000; noviembre: 57-63.
- Neuberger MS, Harris RS, Di Noia J *et al*: Immunity through DNA deamination. *TiBS* 2003; 28: 305-312.
- Muylldermans S, Cambillau C, Wyns L: Recognition of antigens by single-domain antibody fragments: the superfluous luxury of paired domains. *TiBS* 2001; 26: 230-235.
- Nieva J, Wentworth P Jr: The antibody-catalyzed water oxidation pathway – a new chemical arm to immune defense? *TiBS* 2004; 29: 274-278.
- Novatchkova M, Leibbrandt A, Werzowa J *et al*: The STIR-domain superfamily in signal transduction, development and immunity. *TiBS* 2003; 28: 226-229.
- Weiner DB, Kennedy RC: Vacunas genéticas. *Inv y C* 1999; septiembre: 14- 23.

FENÓMENOS CONTRÁCTILES, CONTRACCIÓN MUSCULAR Y ACTIVIDAD FÍSICA

32.1 TIPOS DE MÚSCULOS

El movimiento coordinado es fundamental para la vida, y la motricidad es un atributo vital presente en toda la escala filogenética y en todos los niveles del organismo vivo. Dentro de la variedad de fenómenos motores, uno de los más importantes es la *contracción muscular*. Por ello, se analizarán los distintos tipos y funciones de músculos y fibras, centrándonos en el caso más interesante: el músculo esquelético o estriado. Asimismo, se estudiarán otras estructuras motrices fundamentales para la vida.

Dependiendo de las funciones que desempeñan en el organismo, existen distintos tipos de músculos, que se pueden clasificar según diferentes criterios. Así, desde el punto de vista morfológico, podemos distinguir:

- *Músculo estriado o esquelético*: así denominado por estar formado por fibras (células) no ramificadas en las que se observan bandas cruzadas, con una distribución muy organizada. Las células son polinucleadas y cada una de ellas suele ser estimulada por una sola neurona motora en una cierta región de la fibra, denominada placa motora, conociéndose la sinapsis como unión neuromuscular. Su contracción es voluntaria.
- *Músculo liso*: no tiene el carácter estriado del músculo esquelético. Sus células son pequeñas y con un único núcleo central. Suele estar inervado por el sistema nervioso autónomo; por tanto, su contracción es involuntaria. Se localiza en lugares como el tracto gastrointestinal, el sistema respiratorio y las paredes de los vasos sanguíneos.
- *Músculo cardíaco*: formado por células estriadas, mononucleadas y ramificadas; posee características comunes a los dos tipos de músculos anteriores. Su contracción es también involuntaria, ya que el sistema nervioso autónomo ejerce un control global.

Según otros criterios, los músculos pueden clasificarse en *músculos rojos* (contracción lenta, elevada irrigación sanguínea, funcionamiento prolongado) y *músculos blancos* (con-

tracción rápida, escasa irrigación sanguínea y agotamiento rápido); y las fibras musculares esqueléticas, en *fibras de contracción rápida* (20-25 ms) y *fibras de contracción lenta* (60-130 ms).

32.2 MÚSCULO ESQUELÉTICO. ESTRUCTURA DE LAS MIOFIBRILLAS

En el músculo esquelético no existe individualidad de las células, al haber desaparecido las membranas intercelulares. Cada uno de los 430 músculos voluntarios del cuerpo está constituido por haces de fibras o células musculares rodeadas de tejido conjuntivo. Cada uno de estos haces se denomina *fascículo*. La membrana que rodea a las fibras, excitable eléctricamente, se denomina *sarcolema*. El citoplasma de estas células alargadas (de ahí, el nombre de fibra) recibe el nombre de *sarcoplasma*. Las mitocondrias constituyen el denominado *sarcosoma* y son muy abundantes en los músculos rojos (ricos en mioglobina y citocromos); por el contrario, son escasas en los músculos blancos.

En el sarcoplasma de una célula muscular se encuentran las *miofibrillas*, estructuras de 1 mm de diámetro, dispuestas en haces paralelos. Las miofibrillas se encuentran rodeadas por una estructura membranosa, denominada *retículo sarcoplásmico*. La unidad funcional muscular, el *sarcómero*, se repite a lo largo de la miofibrilla cada 2.3 µm de longitud. En la miofibrilla se alternan una banda oscura, *banda A* (anisotrópica) y una más clara, *banda I* (isotrópica). Esto confiere a la miofibrilla y al músculo su carácter estriado. La región central de la banda A, *zona H*, es menos oscura que el resto de la banda. En el centro de la zona H se encuentra una línea muy oscura, *línea M*. La banda I queda dividida en dos mitades por una línea oscura y estrecha, *línea Z* o *disco Z* (del alemán, *zwischen*, intermedio). Cada sarcómero se extiende desde una línea Z a la siguiente. Durante la contracción se produce la aproximación de las líneas o discos Z, con el consiguiente acortamiento de los sarcómeros y de la miofibrilla (Fig. 32-1).

Esta estructura característica del sarcómero está determinada por la existencia de dos clases de filamentos proteicos

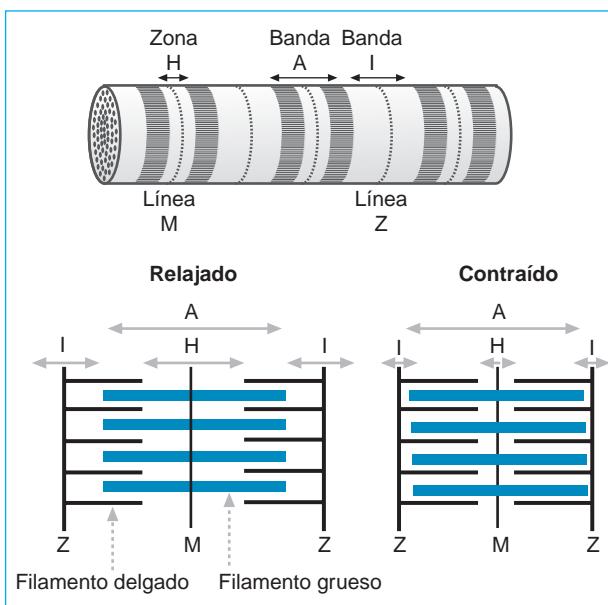


Figura 32-1. Esquema estructural del sarcómero. Durante la contracción disminuye la longitud del sarcómero, al aumentar el solapamiento entre los filamentos delgados y gruesos. La longitud de la banda A permanece constante, mientras que las longitudes de la zona H y de la banda I decrecen.

que interactúan recíprocamente: *filamentos gruesos* y *filamentos delgados*. Los gruesos tienen un diámetro de 15 nm; los delgados, de unos 7 nm. Los filamentos gruesos están constituidos fundamentalmente por *miosina*. Los delgados contienen *actina* y, también, *tropomiosina* y *troponina*. La banda I está formada sólo por filamentos delgados, que se prolongan hasta los bordes de la zona H; la zona H de la banda A sólo presenta filamentos gruesos. La línea M parece estar formada por proteínas que mantienen enlazados los filamentos gruesos.

También existen otras diferentes proteínas en el sarcómero, que se unen específicamente a zonas determinadas del mismo.

32.2.1 Miosina

La miosina desempeña tres funciones biológicas importantes:

- Es el componente fundamental de los filamentos gruesos.
- Presenta actividad ATPasa, con lo que se consigue la energía necesaria para la contracción muscular.
- Se une a la forma polimerizada de la actina, actina F, para que se produzca la fuerza generadora de la contracción muscular.

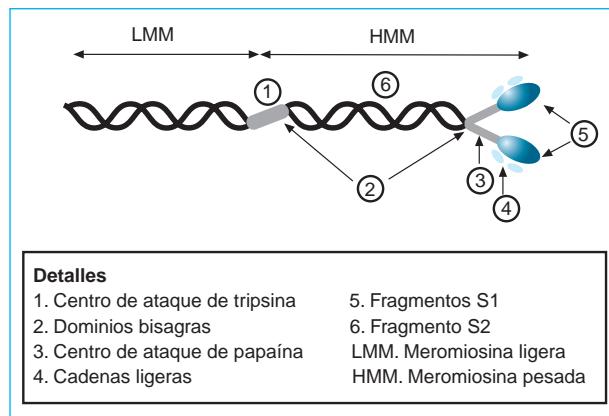


Figura 32-2. Estructura de la miosina. Posee dos cadenas polipeptídicas enrolladas en forma de hélice α en casi toda su longitud (cadenas pesadas) y cuatro de menor tamaño (cadenas ligeras). En un extremo de la molécula, las cadenas pesadas se disponen formando estructuras globulares, a las que se unen las cadenas ligeras.

La miosina (Fig. 32-2) posee dos cadenas polipeptídicas grandes e iguales, denominadas *cadenas pesadas*, enrolladas en forma de hélice α en casi toda su longitud, y otras cuatro, de tamaño menor y diferentes, llamadas *cadenas ligeras*. En un extremo de la molécula, las cadenas pesadas se disponen formando estructuras globulares a las que se unen las cadenas ligeras. Cada filamento grueso está constituido por varios centenares de moléculas de miosina, dispuestas de modo bipolar.

La miosina se rompe en dos fragmentos tras su tratamiento con tripsina. Uno, denominado *meromiosina ligera* (*LMM*), forma filamentos carentes de actividad ATPasa y sin capacidad de interaccionar con la actina. El otro, la *meromiosina pesada* (*HMM*), no forma filamentos, pero conserva las otras dos propiedades. El tratamiento de la *HMM* con papaina origina dos subfragmentos globulares, llamados *S1*, y un tercer fragmento alargado, denominado *S2*. Cada fragmento *S1* presenta un centro activo para la actividad ATPasa y un sitio de unión a la actina. Existen diferentes isoformas de miosina (isomiosinas), con distinta localización muscular, según las necesidades de los órganos contráctiles.

32.2.2 Actina

La actina, componente mayoritario de los filamentos delgados, presenta una estructura de monómero globular, denominado *actina G*, que al aumentar la fuerza iónica del medio polimeriza, originando una forma fibrosa constituida por dos cadenas helicoidales, con una orientación definida, a lo largo de las cuales se sitúan las moléculas de actina G, for-

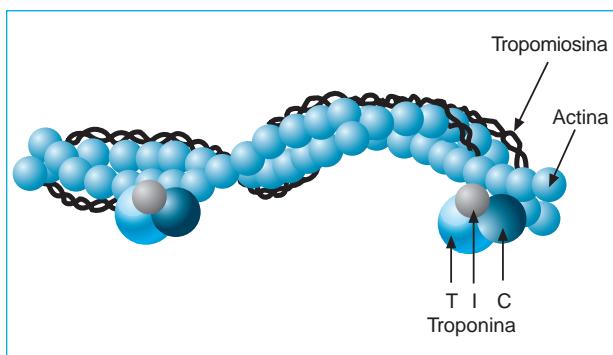


Figura 32-3. Estructura del complejo actina-tropomiosina-troponina. La tropomiosina está formada por dos cadenas helicoidales. La troponina es un complejo formado por tres cadenas polipeptídicas: C, que une iones de calcio; I, que se une a la actina; y T, que se une a la tropomiosina.

mando la *actina F*, de estructura similar a los filamentos delgados del sarcómero. A lo largo del surco helicoidal de la actina F se dispone la molécula de *tropomiosina*, otra proteína fibrosa que está formada, a su vez, por dos cadenas helicoidales. En cambio, la *troponina* es un complejo formado por tres cadenas polipeptídicas: troponina C, que une iones de calcio; troponina I, que se une a la actina; y troponina T, que se une a la tropomiosina.

La tropomiosina y la troponina forman un complejo que se repite periódicamente en los filamentos delgados, constituyendo un tercio de la masa de los mismos (Fig. 32-3). La unión de iones de calcio al complejo tropomiosina-troponina origina un desplazamiento del mismo y permite que se pueda producir la unión de las cabezas de miosina a la actina, necesaria para el proceso de contracción.

32.3 MECANISMO DE LA CONTRACCIÓN MUSCULAR

La longitud de los sarcómeros se modifica en la contracción muscular, y para explicar este proceso se ha propuesto el *modelo de los filamentos deslizantes*, cuyas características principales son:

- La longitud de los filamentos delgados y gruesos no cambia durante la contracción muscular.
- En la contracción disminuye la longitud del sarcómero, porque aumenta el solapamiento entre los filamentos delgados y gruesos al deslizarse entre sí, de modo que la longitud de la banda A permanece constante en el proceso, mientras que las longitudes de la zona H y de la banda I decrecen, pudiendo llegar a desaparecer.

32.3.1 Interacción actina-miosina

La fuerza que impulsa la contracción muscular procede de la interacción de la actina, la miosina y el ATP. El ciclo asociación-disociación de actina y miosina viene determinado por la unión del ATP. El ATP se une a la miosina y se hidroliza con rapidez. Sin embargo, sus productos de hidrólisis, ADP y Pi, tardan en abandonar la proteína, creyéndose que la unión de la actina al complejo miosina-ADP-Pi acelera la salida de los productos. Una vez que el ADP y el Pi salen, el complejo de *actomiosina* se disocia por unión de una nueva molécula de ATP, quedando ésta unida a la miosina. La actividad ATPasa de la miosina aumenta 200 veces al unirse con la actina y formar el complejo actomiosina. Tras la hidrólisis del ATP, el ciclo se reinicia.

32.3.2 Mecanismo

La fuerza contráctil deriva de estos procesos cíclicos de formación y disociación de complejos de la actina con los fragmentos S1 de la miosina. En la Figura 32-4 se expone el modelo propuesto para el mecanismo molecular de la contracción, que consta de tres fases: adherencia, tracción y disociación.

La unión de la ATP y la interacción con la actina tiene lugar en los fragmentos S1 de la miosina. Inicialmente, en el músculo en reposo, tras la entrada de una molécula de ATP, los fragmentos S1 de la miosina del filamento grueso están separados de la actina del filamento delgado. A continuación, se produce la hidrólisis del ATP, aunque sus productos, ADP y Pi, se mantienen unidos a la cabeza de la miosina. Tras la hidrólisis del ATP, la cabeza de miosina sufre un cambio de conformación de alta energía, que la deja preparada para la unión a la actina. Tras la estimulación nerviosa y la subsiguiente unión del Ca^{2+} , se inicia la fase de *adherencia*. Se produce la liberación del fosfato, estableciéndose puentes cruzados de unión entre las cabezas de miosina con los filamentos de actina.

A continuación, se produce la liberación del ADP, originándose un cambio en la estructura de la cabeza de miosina, que da lugar al impulso motriz, que es responsable de la *tracción* muscular, con el desplazamiento del filamento de actina. Se origina, así, el movimiento del filamento delgado que se desliza con respecto al grueso.

Por último, la unión de una nueva molécula de ATP origina el proceso de eliminación de los puentes cruzados y la *disociación* de la actina y la miosina. Ello ocurre por la reversión del cambio de conformación sufrido anteriormente. El resultado final consiste en un deslizamiento del filamento delgado con respecto al filamento grueso.

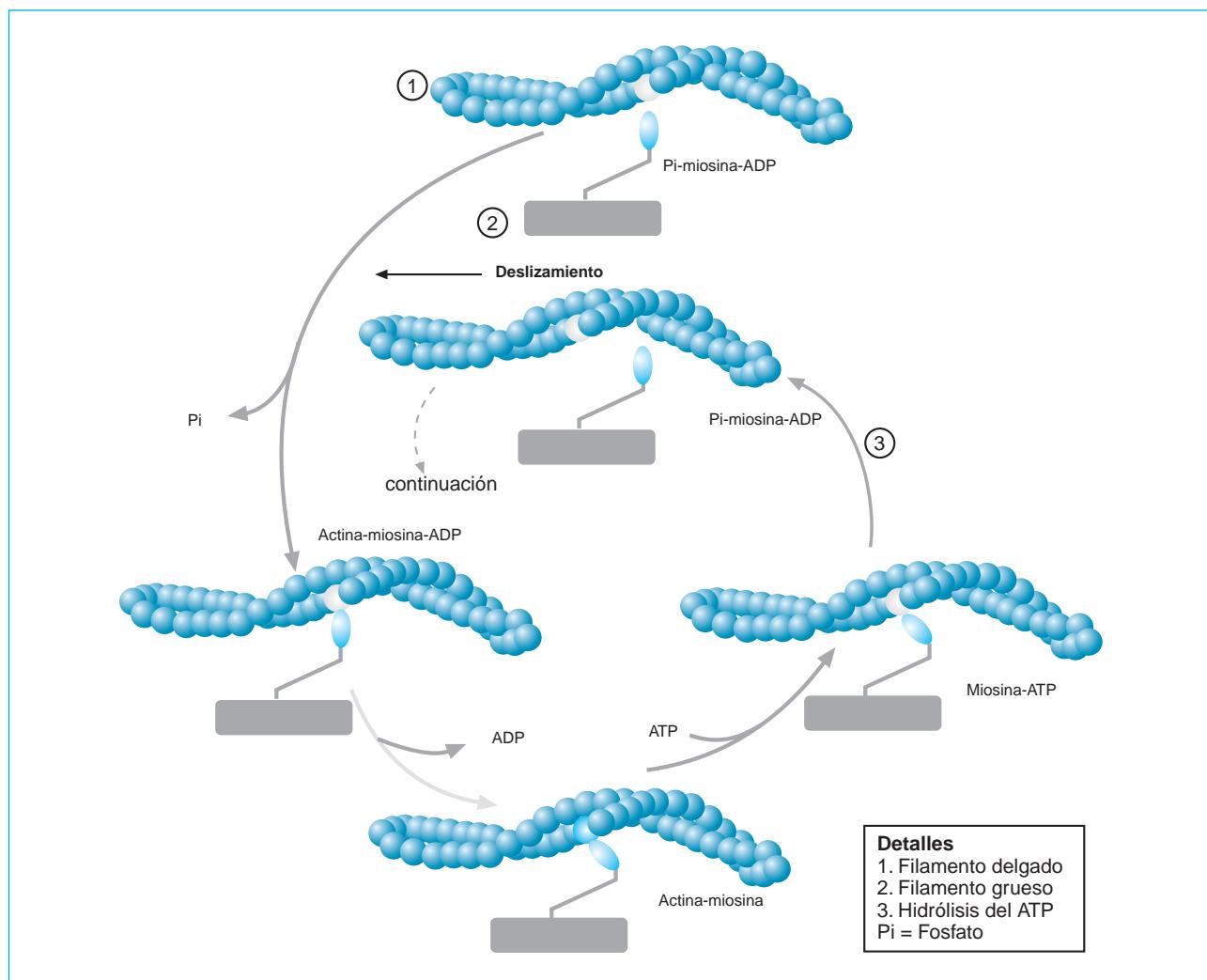


Figura 32-4. Mecanismo de la contracción muscular. En la fase de adherencia se produce la liberación del fosfato, estableciéndose puentes cruzados de unión entre las cabezas de la miosina con los filamentos de la actina. Tras la liberación de ADP, se origina un cambio en la estructura de la cabeza de la miosina, que da lugar al impulso motriz, responsable de la tracción muscular. La unión de una nueva molécula de ATP origina la eliminación de los puentes cruzados y la disociación de la actina y la miosina.

Los cambios de conformación de las cabezas de miosina afectan a una hélice extendida que une las cabezas de miosina a la parte longitudinal de la miosina. Esta hélice actúa como un brazo palanca, cuya oscilación amplifica el cambio conformacional de la cabeza de miosina y es responsable del impulso motriz.

32.3.3 Regulación de la actividad contráctil

Para que se produzca la contracción se requiere la interacción de los dos tipos de filamentos. El sistema está regulado por las proteínas tropomiosina y troponina, existiendo una molécula de cada de ellas por cada siete moléculas de actina. Los

iones de calcio intervienen en la regulación. En estado relajado del músculo, este ion se encuentra, principalmente, en el interior del retículo sarcoplásmico, unido a una proteína específica denominada *calsecuestrina*; por ello, su concentración en el sarcoplasma es muy baja ($< 1 \mu\text{M}$).

La llegada de un impulso nervioso produce la liberación del calcio del retículo sarcoplásmico hacia el sarcoplasma que rodea las miofibrillas. Se alcanzan así, concentraciones del orden de $10 \mu\text{M}$, que desencadenan la contracción. El impulso nervioso desencadenante de la contracción ocasiona la llegada de un potencial de acción (véase el Cap. 33) a la unión neuromuscular, provocando la liberación de acetilcolina y la despolarización del sarcolema. Esta despolarización

se transmite al retículo, aumentando la permeabilidad de su membrana para los iones de calcio, por apertura de los canales de calcio dependientes de voltaje. La señal se transmite con rapidez a todo el retículo sarcoplásmico, gracias a unas invaginaciones del sarcolema, denominadas *túbulos transversales*, que establecen un contacto directo con la membrana del retículo sarcoplásmico.

La troponina C presenta dos dominios homólogos, cada uno de los cuales contiene dos sitios de unión para los iones de calcio (Fig. 32-3). Los del dominio carboxiterminal presentan una gran afinidad para dichos iones, mientras que los del aminotermino tienen una escasa afinidad. En el músculo relajado, los sitios de unión de gran afinidad están ocupados, pero los de escasa afinidad se hallan vacíos. Tras la salida de iones de calcio al sarcoplasma, los sitios de escasa afinidad también se ocupan, lo que origina un cambio de conformación de la troponina C, que se transmite a los otros componentes del complejo de troponina, troponina I y troponina T, y a continuación, a la tropomiosina.

Es probable que la troponina T controle la posición de la tropomiosina en el filamento delgado, cerca del lugar de interacción entre la actina y S1. Un cambio pequeño en la posición de la tropomiosina altera la unión de la actina a S1 y, con ello, el ciclo de asociación-disociación descrito. En condiciones de reposo parece que la tropomiosina bloquea la interacción actina-miosina. El cambio de conformación producido por los iones de calcio determina un desplazamiento de la tropomiosina, lo que permite a las cabezas o fragmentos S1 de la miosina interaccionar con la actina. Todo ello constituye el denominado proceso de regulación por filamento delgado.

Mientras siguen llegando impulsos nerviosos a la unión neuromuscular, el ciclo de asociación-disociación sigue produciéndose y, por ende, la contracción muscular. Al cesar estos impulsos, el sarcolema recupera su polarización, disminuyendo la permeabilidad iónica para el calcio en el retículo sarcoplásmico. Los niveles bajos de calcio en el sarcoplasma se recuperan por bombeo rápido hacia el retículo, mediante un sistema de transporte activo, denominado *bomba de calcio* dependiente de ATP ($\text{Ca}^{2+}/\text{ATPasa}$), y la célula pasa al estado de reposo. Este proceso de relajación necesita el concurso de ATP. Puede ocurrir que, después de un gran esfuerzo, se agote el ATP muscular, impidiendo el funcionamiento de la bomba de calcio. En tal caso, el ion de calcio permanecería en el sarcoplasma y el músculo contraído permanentemente, produciéndose el fenómeno doloroso del *calambre*. Del mismo modo, tras la muerte de un individuo se agota su ATP muscular, el ion de calcio difunde hacia el sarcoplasma, el músculo se contrae y aparece la rigidez permanente del cadáver, es decir, el *rigor mortis*.

32.4 MÚSCULO LISO. REGULACIÓN DE LA CONTRACCIÓN

El músculo liso, de contracción involuntaria, se puede encuadrar en dos grandes subtipos:

- *Músculo liso unitario o visceral*, que responde a señales tisulares, en el que millares de fibras musculares pueden contraerse juntas como una sola unidad. Se encuentra en las paredes de la mayoría de las vísceras, así como en los conductos biliares, intestino, uréteres, útero.
- *Músculo liso de unidades múltiples o multiunitario*, que responde a señales nerviosas, en el que cada fibra puede contraerse independientemente de las otras. Ejemplos de este tipo de músculo lo constituyen el músculo ciliar del ojo, el iris del ojo o los músculos piloerectores que causan el erizamiento del vello.

El mecanismo de contracción es similar al músculo estriado, aunque existen diferencias apreciables. Así, el ciclo de unión-disociación de actina y miosina es más lento que en el músculo esquelético. La contracción y relajación es más lenta y se puede mantener la contracción durante mucho tiempo (horas, incluso). Además, la energía necesaria para mantener la contracción en el músculo liso es mucho menor que para el músculo esquelético; no obstante, la fuerza máxima de contracción del músculo liso, es con frecuencia, superior a la del músculo esquelético.

En el músculo liso no existe troponina y la regulación se lleva a cabo por el filamento grueso. La miosina contiene tres clases de cadenas ligeras, denominadas LC1, LC2 y LC3. Cada fragmento S1 contiene una unidad de LC2 (cadena ligera reguladora) y una LC1 o LC3. La fosforilación de LC2 dobla la actividad *ATPasa* de la miosina inducida por la actina. Esta fosforilación de la cadena LC2 del músculo liso produce la contracción, mientras que la desfosforilación origina la relajación.

El proceso está catalizado por la *quinasa de la cadena ligera de la miosina (MLCK)*. El ion de calcio no activa a la quinasa directamente. La MLCK se activa por la *calmodulina*, una proteína que une calcio y que es similar a la troponina C. La unión del ion de calcio a la calmodulina produce una modificación en su estructura, permitiendo su interacción con la MLCK, activándola y desencadenando la fosforilación. Al cesar el estímulo, se produce la desfosforilación de la MLCK por la acción de una fosfatasa independiente de calcio, la *miosina fosfatasa*. La relajación es más lenta que en el músculo estriado, ya que este proceso de desfosforilación transurre a menor velocidad que la bajada de los niveles sarcoplásicos de calcio en el músculo esquelético.

Recuadro 32-1.**DISTROFIAS MUSCULARES**

Las enfermedades musculares pueden clasificarse genéricamente, según el rasgo más característico, en: a) las que cursan con debilidad muscular progresiva; b) aquéllas en las que aparece una intolerancia al ejercicio (de origen metabólico) y, c) las que se deben a un defecto en el mecanismo de contracción, como la distrofia miotónica.

Las distrofias musculares (DM) constituyen el ejemplo típico del primer grupo. Son miopatías degenerativas, determinadas genéticamente, en las que existe atrofia muscular y debilidad progresiva. Son enfermedades de la fibra muscular. Entre ellas, con un patrón de herencia ligada al cromosoma X, se pueden citar: la DM de Duchenne, la DM de Becker y la DM de Emery-Dreifuss.

La distrofia muscular de Duchenne es una enfermedad grave con una incidencia en varones de 1:3000. La expectativa de vida no supera los 20 años, con confinamiento precoz en silla de ruedas. El 8% de las mujeres portadoras puede presentar síntomas. La DM de Becker es una forma leve de la DM de Duchenne, de inicio más tardío y progresión más lenta. El desencadenante de estas distrofias es una alteración en el gen que codifica la distrofina, una proteína de la familia de las espectrinas que se sitúa en la superficie interna del sarcólema, estabilizando la membrana. En la DM de Duchenne existe poca distrofina o ésta no es funcional; en la de Becker, menos grave, la distrofina está reducida en tamaño o cantidad. Aunque estas distrofias cursan con deterioro muscular, éste es, en ocasiones, poco evidente, ya que se origina el fenómeno compensatorio de pseudohi-

peretrofia, en el que el músculo es reemplazado por tejido fibroso y grasa. Ello hace, que paradójicamente, a veces, los niños afectados pueden semejar «pequeños Hércules», con un aparente tamaño muscular superior a lo esperado a su edad.

En estas distrofias se produce una elevación en los niveles de creatina quinasa séricos; las mujeres portadoras presentan niveles de creatina quinasa intermedios. Además del estudio de esta actividad enzimática, en la evaluación diagnóstica se incluye el análisis de la distrofina en biopsias del músculo, con transferencia *Western* para estimar la cantidad y el peso molecular de la distrofina, y transferencia *Southern* para determinar la naturaleza de la mutación. La DM de Emery-Dreifuss se caracteriza por un patrón diferente, con contracturas, miocardiopatía y debilidad muscular lentamente progresiva.

Además de la regulación de la contracción del músculo liso por el sistema nervioso, varias hormonas y factores tisulares ejercen un papel regulador. Noradrenalina, adrenalina, acetilcolina, angiotensina, vasopresina, oxitocina, serotonina e histamina son algunos de ellos. La adrenalina, por ejemplo, activa la adenilato ciclase, con el consiguiente aumento de los niveles de AMPc intracelulares. Ello activa la proteína quinasa dependiente de AMPc y fosforila la MLCK. Cuando la MLCK está fosforilada, su afinidad por el complejo calcio-calmodulina disminuye, y se reduce entonces la actividad de la MLCK. De este modo, decrece la proporción de miosina fosforilada en el músculo, lo que produce su relajación (Recuadro 32-1).

32.5 OTRAS ESTRUCTURAS MOTRICES

Además de los músculos, existen en el organismo otras estructuras motrices de localización variada. Aunque la actina y la miosina se han asociado tradicionalmente con las fibras musculares, ambas proteínas se suelen encontrar en la gran mayoría de las células eucarióticas. En general, las células eucarióticas poseen una organización interna denominada *citoesqueleto*, que se encuentra implicada en el transporte interno, en el movimiento y en la morfología celular. En el

citoesqueleto intervienen tres tipos diferentes de componentes: *microfilamentos* (70 Å de diámetro), los *filamentos intermedios* (70-110 Å de diámetro) y los *microtúbulos* (300 Å de diámetro).

Los *microfilamentos* están formados por actina. Aparecen en las microvellosidades de las células del epitelio intestinal. También están implicados en el mantenimiento de la morfología celular en las cercanías de la membrana celular. En el proceso de *citocinesis* (constricción de una célula para su división en las fases finales de la mitosis) participa un complejo contráctil de actina-miosina. Otro proceso en el que se encuentran implicadas la actina y la miosina es el de transporte intracelular de vesículas. Ciertas sustancias, como la citocalasina B o la faloidina, pueden bloquear los procesos en los que están implicados los microfilamentos, y provocar alteraciones en la forma y los movimientos de las células.

Los *filamentos intermedios* están constituidos por una gran variedad de proteínas, lo que determina la existencia de diversos tipos de filamentos intermedios, con diferentes funciones. Así, por ejemplo, los formados por queratinas proporcionan rigidez a las células del tejido epitelial. Otros se localizan en los discos Z de los sarcómeros. Otros, en las neuronas para mantener la estructura de los axones. En general, la función de los filamentos intermedios es la de conferir resistencia mecánica a las células.

Los *microtúbulos* están compuestos por estructuras cilíndricas huecas constituidas por *tubulina*, proteína formada por dos subunidades, α y β , parecidas en su secuencia polipeptídica. Desempeñan muchas y diferentes funciones motrices. Así, por ejemplo, son componentes del axonema de cilios y flagelos; se encargan del movimiento de gránulos de pigmentos en las células cromatóforas; son responsables del transporte axónico rápido en las neuronas; y constituyen el huso acromático de la mitosis. La *colchicina* inhibe los procesos celulares que dependen de los microtúbulos, al bloquear su polimerización. Por ello, las células en división se detienen en metafase por la acción de la colchicina, pues los cromosomas necesitan los microtúbulos para su desplazamiento.

Varias proteínas y orgánulos celulares se desplazan con rapidez en el citoplasma a lo largo de microtúbulos, que dirigen y facilitan su movimiento. Existen dos tipos de motores moleculares asociados a los microtúbulos implicados en este transporte: las *cinesinas* y las *dineínas* (la dineína citoplasmática es parecida a la existente en los cilios y flagelos).

Presentan una estructura molecular diferente, pero ambas se unen a las proteínas u orgánulos y los transportan a lo largo de los microtúbulos. Recorren el microtúbulo en sentidos opuestos y dependen de la hidrólisis del ATP para llevar a cabo su función.

32.6 CILIOS Y FLAGELOS. ESTRUCTURA BIOQUÍMICA

Tanto los cilios como los flagelos presentan el mismo diseño estructural. Se trata de un haz de microtúbulos, denominado *axonema*, rodeado por una membrana que es prolongación de la membrana plasmática y conectado a un *cuerpo basal* que constituye su anclaje en el interior de la célula. En el centro del axonema se localizan dos microtúbulos simples que forman el denominado *doblete central* (Fig. 32-5). Éstos se encuentran rodeados por nueve *dobletes externos*. A esta distribución se le denomina ordenación (9 + 2). Los dobles externos están constituidos por un microtúbulo completo

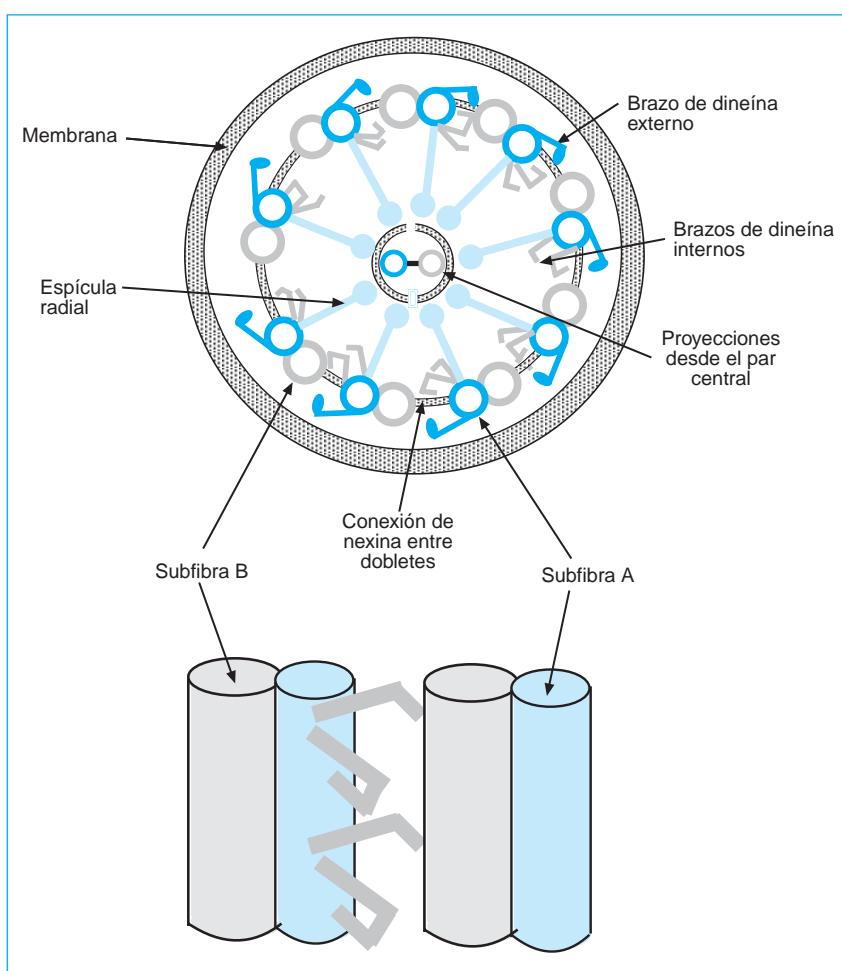


Figura 32-5. Estructura del axonema. Un doblete central de microtúbulos se encuentra rodeado de nueve dobles externos (ordenación 9+2).

(subfibra A) y otro incompleto (subfibra B). Los dobletes externos se conectan con el doblete central a través de las *espículas radiales*, que parten de la subfibra A. De ella, también parten dos estructuras, los *brazos de dineína*, que se dirigen hacia la subfibra B del doblete contiguo. Además, los dobletes externos se unen entre sí por puentes de *nexina*.

En su estructura se han detectado unas 100 proteínas diferentes. Una de las más importantes es la *dineína*. Se trata de una proteína de peso molecular muy elevado y con actividad ATPasa, con un ciclo muy parecido al de la miosina, actuando la subfibra B a modo de actina. El movimiento de oscilación de los cilios y flagelos se produce por el deslizamiento de los dobletes externos del axonema, con respecto a los adyacentes, originando una flexión. La capacidad motriz del axonema se encuentra también regulada por la presencia del ion de calcio.

En ciertas enfermedades pulmonares se han encontrado cilios defectuosos, carentes de movimiento. Asimismo, los varones que presentan estas afecciones son estériles, ya que sus espermatozoides no pueden desplazarse. Éste es el caso del denominado *síndrome de los cilios inmóviles* o del *síndrome de Kartagener*. En general, se debe a la ausencia de alguna de las estructuras fundamentales del axonema (brazos de dineína, espículas radiales, puentes de nexina, etc.).

32.7 RESERVAS ENERGÉTICAS

En los procesos metabólicos, la moneda energética que se emplea es el ATP, que se necesita para realizar trabajo metabólico (biosíntesis, construcción de nuevos tejidos), eléctrico (transmisión nerviosa), osmótico (transporte y eliminación de metabolitos), mecánico (contracción muscular), entre otras actividades. En concreto, se ha visto anteriormente que la fuente energética directa para la realización de la contracción muscular es el ATP. Pero la cantidad de ATP presente en el músculo de un sujeto normal, unos 5 µmol/g, equivalente a unas 3 kcal en todo el cuerpo, es tan reducida que por sí sola no soportaría más que unos pocos segundos la actividad contráctil, si no existiesen mecanismos de obtención o recuperación del ATP, como los resumidos en la Figura 32-6:

- ANAEROBIOS: reservas de ATP, reservas de fosfato de creatina (CP) y fosforilaciones de sustrato.
- AEROBIOS: fosforilación oxidativa acoplada a la cadena transportadora de electrones. El catabolismo, principalmente de hidratos de carbono y grasas e, incluso, si es necesario, desde aminoácidos, produce la acetilCoA, que alimenta al ciclo de los ácidos tricarboxílicos y hace funcionar la cadena respiratoria.

Respecto a las reservas energéticas musculares directas anaerobias, las de *fosfato de creatina* o fosfocreatina suponen 5 ó 6 veces las de ATP. La enzima *creatina quinasa* (CK) cataliza la transferencia reversible de un grupo fosforilo desde fosfocreatina a ADP para formar ATP, según el equilibrio:



A pH 7, el cambio de energía libre de hidrólisis para el fosfato de creatina es de -10.3 kcal/mol, y para el ATP es de -7.3 kcal/mol. En el músculo relajado, la concentración de ATP es de 4 mM y la de fosfato de creatina, 25 mM. Ello permite mantener en el músculo una concentración de ATP elevada en equilibrio con la de fosfato de creatina hasta que ésta disminuye drásticamente. Cuando ello ocurre, se regeneran los niveles de ATP a través de las vías metabólicas correspondientes. En cualquier caso, existen particularidades dependiendo del tipo de músculo, del entrenamiento, etcétera.

En la Tabla 32-1 se indica la cuantía de las reservas energéticas normales de un varón medio. Como ya se ha visto en el Capítulo 14, las reservas musculares de glucógeno pueden proporcionar una energía rápida, en condiciones *anaerobias*, por su catabolismo hasta lactato, obteniéndose aproximadamente 3 moles de ATP por cada mol de glucosa, lo que significa una energía potencial almacenada para el glucógeno muscular de unas 120 kcal. La capacidad energética de ese mismo glucógeno muscular, teniendo en cuenta el ciclo de Cori, es decir, con la colaboración *aerobia* del hígado, sería de unas 850 kcal, mientras que la capacidad teórica, imposible de alcanzar en la práctica, energética total aerobia del glucógeno muscular y hepático sería de unas 1900 kcal.

Por ello, las casi 80 000 kcal de las reservas grasas representan el mayor porcentaje cuantitativo, más del 80% total, pero esta producción de energía ha de ser necesariamente aerobia. Aunque las proteínas musculares supongan un 17% de la energía almacenable, por su papel estructural y funcional, existen controles metabólicos para que no desempeñen, salvo en casos de emergencia, un papel importante en el metabolismo energético normal.

32.8 LIMITACIONES ENERGÉTICAS

Nuestros aportes energéticos se obtienen a través de la nutrición, tal como se ha visto en el Capítulo 11, donde en la Tabla 11-1 se resumían las principales características energéticas de los diferentes tipos de nutrientes. En el apartado anterior, acabamos de ver la cuantía global de nuestras disponibilidades energéticas normales.

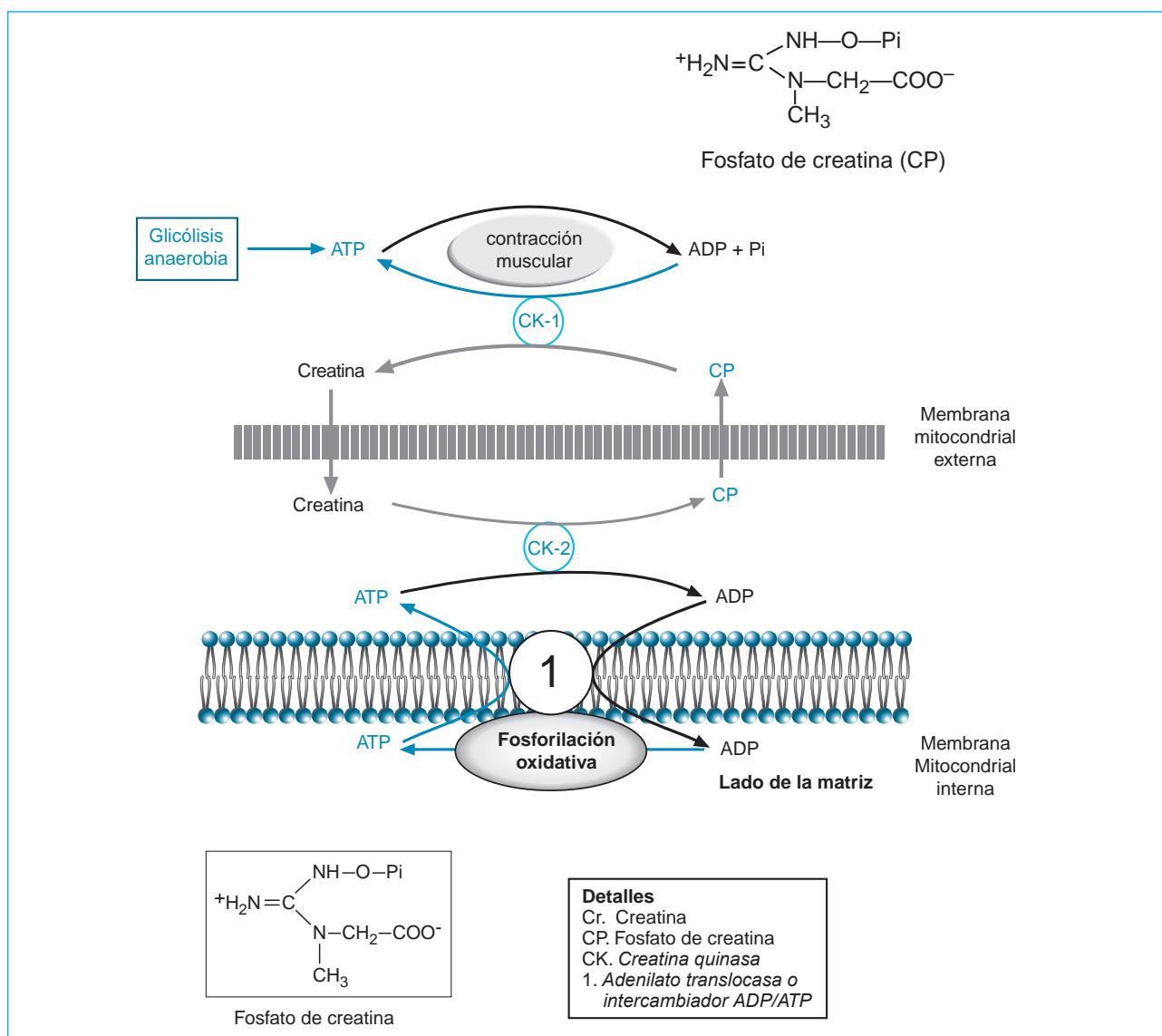


Figura 32-6. Mecanismos generadores y regeneradores del ATP. Los más rápidos son las reservas de ATP y fosfato de creatina. A continuación, la glicólisis anaerobia, mientras que los más complejos que dependen del metabolismo mitocondrial son más lentos.

Tabla 32-1. Reservas energéticas normales (varón medio)

	Tejido	Gramos	Energía	
			kcal	%
Triglicéridos	Adiposo	8400	75 600	80.77
Glucógeno	Hígado	80	320	0.34
Glucógeno	Músculo	400	1600	1.71
Glucosa	Líquidos	20	80	0.08
Proteínas	Músculo	4000	16 000	17.10

Tabla 32-2. Limitaciones energéticas metabólicas

Factor limitativo	Características	kcal/minuto
Creatina quinasa	Condiciones anaerobias	36
Fosfofructoquinasa	Condiciones anaerobias	40-60
Fosforilación oxidativa	Con hidratos de carbono	12
Fosforilación oxidativa	Con grasas	9
VO ₂ máximo	Condiciones aerobias	8-12
Mitocondrias	Número y funcionalidad	¿?

Un importante punto a considerar es que el consumo de esas reservas, sobre todo las derivadas del metabolismo aerobio, se ha de realizar dentro de ciertos márgenes, ya que existen etapas metabólicas que limitan los procesos catabólicos y que están determinadas, entre otras circunstancias, por el número, el tamaño y las características funcionales de las mitocondrias y por la concentración de algunas enzimas claves. El entrenamiento adecuado hace que se modifiquen algunos de esos factores, y mejore el rendimiento energético, pero existen otros factores, como los hormonales y, sobre todo, los genéticos, que son más difíciles de modular, por lo que adquiere bastante sentido la frase del profesor Astrand: «estoy convencido de que cualquier interesado en ganar medallas de oro olímpicas debe seleccionar muy cuidadosamente a sus padres».

En los seres humanos se pueden cuantificar los principales parámetros de limitación metabólica (Tabla 32-2). Respecto al metabolismo anaerobio, la *fosfofructoquinasa* (PFK) actúa como enzima limitativa. Su funcionamiento máximo permite un catabolismo de los hidratos de carbono equivalente a una velocidad energética de unas 40-60 kcal por minuto. En cuanto a la cantidad total y propiedades catalíticas de la creatina quinasa (CK), hacen que la máxima hidrólisis de su sustrato/producto, creatina fosfato, equivalga a unas 36 kcal/minuto.

Otras barreras, en este caso del metabolismo aerobio, son los valores máximos posibles de consumo de oxígeno (VO₂ máximo) y la velocidad de funcionamiento de la fosforilación oxidativa, lo que hace que no suelan superarse, en un varón normal, los valores de 9-10 kcal/minuto en el metabolismo de las grasas o las 12 kcal/minuto, en el de los hidratos de carbono.

En concreto, el VO₂ máximo nos indica la capacidad cuantitativa de un individuo para transferir la energía de forma aerobia, es decir, su capacidad de resíntesis aerobia de ATP. También se denomina *consumo máximo de oxígeno* o

potencia máxima aerobia y representa, en el caso de la realización de un ejercicio continuo cada vez más potente, el punto en el que el consumo ascendente de oxígeno llega a una meseta y no sufre incrementos aun con cargas de esfuerzo adicionales. Llegada a esta situación, el trabajo adicional se habrá de efectuar mediante la energía procedente de la glicólisis anaerobia, con la acumulación de lactato, lo que provocará el agotamiento y la imposibilidad de continuar el esfuerzo. Lógicamente, el valor del VO₂ máximo está relacionado con aspectos genéticos, el sexo, el entrenamiento, la edad, y el tipo de ejercicio, sobre todo con el tamaño de la masa muscular que, normalmente, está en relación directa con el peso corporal. Por ello, los valores del consumo máximo de oxígeno se pueden expresar por unidad de peso, con cifras que rondan los 50 mL de O₂/kg/minuto en hombres, y los 40 mL, en el caso de las mujeres.

Los 50 mL de oxígeno máximos anteriores no se dedican por completo a reoxidar las coenzimas reducidas por la cadena respiratoria. Además, los valores de VO₂ máximo se pueden mantener sólo durante algunos minutos, de modo que en una situación de máximo esfuerzo de larga duración, el consumo máximo de oxígeno puede bajar en una hora hasta menos del 60% de su valor inicial. Por ello, en un varón de 70 kg. se podría tomar un valor sostenido global de menos de 30 mL de O₂/kg/ minuto, es decir, menos de 0.1 mol/minuto. A partir de los datos de la Tabla 32-1 (véase el Cap. 11), que relacionan la energía obtenible en la oxidación de los hidratos de carbono o de lípidos por cada mol de oxígeno consumido, un cálculo sencillo nos llevaría a deducir que, en ejercicios de larga duración, la imposición de una limitación del consumo de oxígeno significaría, a su vez, una limitación en la capacidad de catabolizar de forma aerobia los hidratos de carbono o las grasas. Cuantitativamente se podría evaluar en 1/60 mol de hidratos de carbono por minuto o en 1/230 mol de ácidos grasos. Si tomamos los ejemplos de la glucosa (de 180 Da, con una energía libre de com-

bustión de unas 700 kcal/mol) o del ácido palmítico (de 256 Da y con unas 2300 kcal/mol de energía de combustión), la energía obtenible equivaldría a unas 12 kcal/minuto, a partir del hidrato de carbono o a unas 9-10 kcal/minuto, a partir del ácido graso.

32.9 CONSUMOS ENERGÉTICOS Y ACTIVIDAD FÍSICA

Los gastos energéticos de un individuo se extienden en una banda muy amplia, desde, aproximadamente, 1 kcal/minuto en situaciones de reposo, metabolismo basal, hasta cifras más de 40 veces superiores en atletas que han de realizar un gran esfuerzo de pequeña duración, como levantadores de peso o velocistas de 100 m (Tabla 32-3).

Es evidente, teniendo en cuenta las limitaciones señaladas en la sección anterior, que la potencia del gasto anaerobio puede ser muy grande, *pero de muy corta duración*, ya que nuestras reservas energéticas anaerobias son muy pequeñas. Por el contrario, en los ejercicios prolongados de menor intensidad, los recursos serán fundamentalmente aerobios.

Este hecho se expone en forma gráfica en la Figura 32-7, donde se muestran, a lo largo de la duración del ejercicio, los porcentajes respectivos de ATP que se suministran procedentes de las vías anaerobias (ATP-CP y glicólisis anaerobia) o de las vías aerobias de oxidación de los hidratos de carbono y las grasas.

Como se observa en la gráfica, los ejercicios máximos, con tiempos inferiores a 30 s, obtienen la energía de los sistemas anaerobios y, más específicamente, de las reservas de

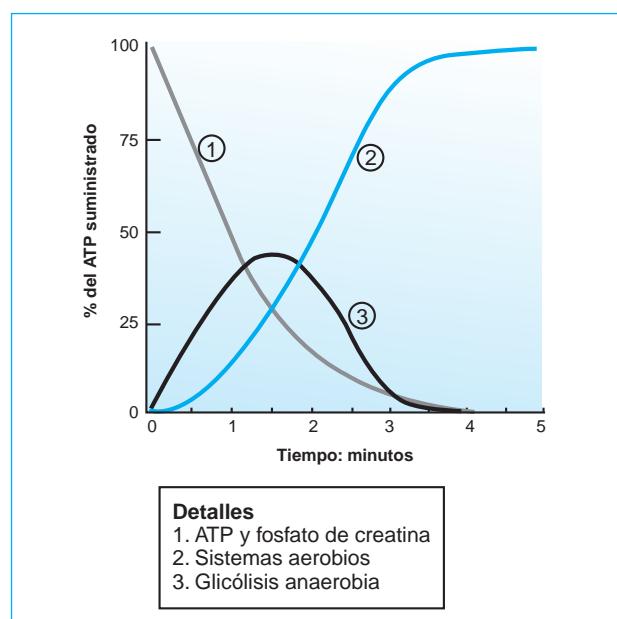


Figura 32-7. Participación porcentual de los diferentes sistemas generadores y regenedores de ATP, a lo largo del tiempo, bajo el supuesto de estar sometidos a condiciones de máximo esfuerzo.

ATP y CP. Tras unos pocos segundos, cada vez va adquiriendo mayor importancia la glicólisis anaerobia. En los primeros dos minutos de ejercicio, con esfuerzo muy intenso, los sistemas anaerobios son superiores claramente a los aerobios, que se convierten en dominantes a partir de ese momento y son totalmente determinantes por encima de los tres minutos.

Tabla 32-3. Consumos energéticos en diversas actividades

Situación	kcal/minuto	Ejemplo
Reposo	1.4	
Ejercicio ligero	4	
Ejercicio pesado	12	
Ejercicio muy intenso	48	

32.9.1 Actividades aerobias y anaerobias

Dependiendo de sus características energéticas, podemos considerar varios tipos de ejercicio o esfuerzos (Fig. 32-8). Los de *fuerza-potencia* son de muy alta intensidad y duración mínima, de muy pocos segundos, por lo que, de acuerdo con las limitaciones antes señaladas, su suministro de energía será anaerobio y basado exclusivamente en las reservas musculares de ATP-CP. En términos deportivos, algunos ejemplos de tales actividades serían el salto de altura, el levantamiento de peso, el saque en el tenis o el *swing* en el golf.

Los de *potencia sostenida*, de alta intensidad y una duración inferior a 10 s, también obtienen la energía de las reservas anaerobias de ATP y CP. Los ejemplos clásicos serían los *sprints*, o las escapadas en los juegos de equipos. El tercer tipo de actividad a base de energía anaerobia, con una duración que puede llegar a un minuto y medio, aunque con

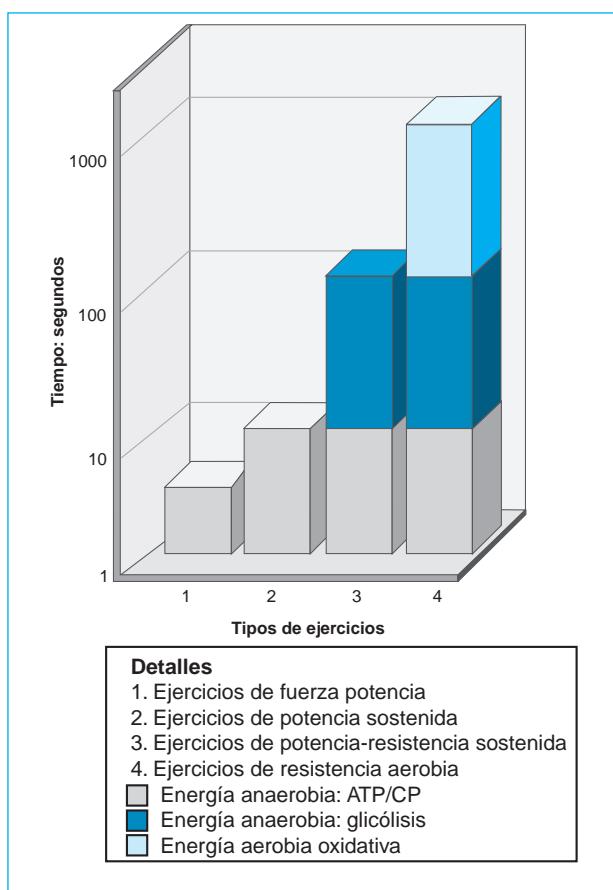


Figura 32-8. Tipos de ejercicio, según su duración y tipo de energía necesitada.

menor intensidad que en los casos anteriores, sería el ejercicio denominado de *potencia-resistencia sostenida*, como las pruebas de natación de 100 m o las carreras de 200-400 m.

En estos casos, aparte de las reservas de ATP-CP, la energía se obtiene principalmente de la glicólisis anaerobia, a partir de las reservas musculares de glucógeno. Por último, en la *resistencia aerobia*, la duración del ejercicio es muy variable, desde unos pocos minutos a varias horas que, en carreras, corresponderían a distancias, desde 800 m a la maratón o superiores. En estas situaciones, el aporte anaerobia inicial es un porcentaje muy pequeño respecto a las necesidades energéticas totales, que se cubren casi en su totalidad a través del metabolismo aerobio de las grasas y los hidratos de carbono.

Por todo ello, las diversas actividades de ejercicio y, en concreto, las deportivas, podrían clasificarse en una escala aerobia/anaerobia, como la que se muestra en la Figura 32-9, en la que la valoración se ha dividido en cuatro zonas que corresponden, respectivamente, a 0-25% de gasto anaerobia (100-75% aerobia), 25-50% de gasto anaerobia (75-50%

aerobia), 50-75% de gasto anaerobia (50-25% aerobia) y 75-100% de gasto anaerobia (25-0% aerobia).

32.9.2 Algunas características del suministro anaerobia de energía

En situación basal, el gasto energético en un varón tipo es del orden de 1.4 kcal/minuto, mientras que actividades de gran potencia energética (alta intensidad y poco tiempo), como el levantamiento de pesas o la carrera de 100 m, pueden requerir una energía del orden de 40-50 kcal/minuto. De ahí que, como ya se ha indicado, las reservas de ATP y CP sólo puedan sostener ejercicios de muy alta intensidad, pero de corta duración.

En cuanto a la glicólisis muscular total, su velocidad normal, en las condiciones basales consideradas, es de unos 0.6 mmol/minuto, y la participación energética del músculo esquelético en la economía energética corporal no alcanza el 25%. La velocidad de la glicólisis anaerobia muscular puede llegar a incrementarse unas mil veces en la fase no inicial del ejercicio anaerobia de potencia sostenida. Sin embargo, durante un ejercicio de resistencia aerobia, el consumo de oxígeno por toda la musculatura corporal sólo se incrementa unas seis veces. Esto nos indica el importante papel de adaptación que desempeña la glicólisis anaerobia, a pesar de su menor rendimiento respecto a la aerobia. Este hecho permite que en los ejercicios de potencia sostenida se puedan alcanzar valores incluso superiores a las 40 kcal/minuto, durante un período de tiempo que dependerá de las reservas musculares

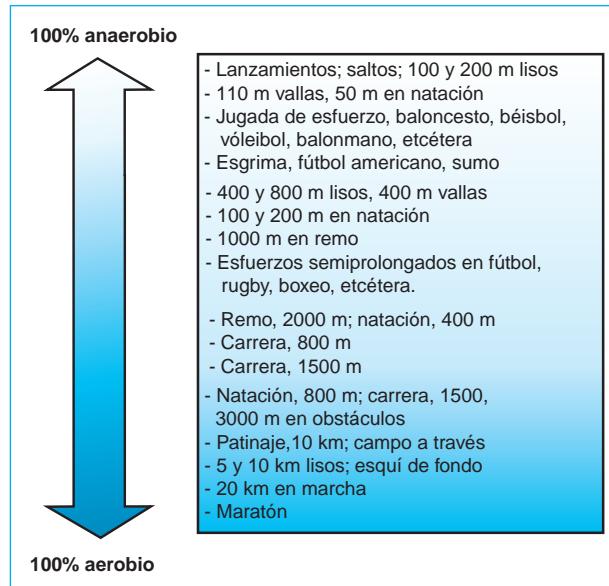


Figura 32-9. Algunos ejemplos típicos de actividades deportivas, de acuerdo con su mayor o menor carácter aerobia.

de glucógeno, pero que, normalmente, se sitúa entre 10 y 20 s, una vez finalizado el pequeño *período anaerobio aláctico*, en el que la energía procede del sistema ATP-CP.

Desde un punto de vista bioquímico, ello supone la necesidad de una potente regulación de la glicólisis anaerobia para conseguir la estimulación precisa de las etapas limitativas. La principal de estas etapas es la cantidad y actividad de la enzima *fosfofructoquinasa* muscular. Los reguladores más eficaces, para conseguir la activación metabólica, son:

- *Efectores*, entre ellos el AMP (consecuencia del uso del ATP) y el NH₄⁺ (procedente de la desaminación del AMP), que activan la PFK.
- *Hormonas*, entre ellas la adrenalina, que actúa a través del sistema del AMP cíclico, consiguiendo la activación de la glucogenólisis, tal como se ha visto en el metabolismo de los hidratos de carbono (véase el Cap. 14).
- La existencia de varios *ciclos de sustrato o ciclos fútiles*, como los del glucógeno/G1P, F6P/FBP y G/G6P que, como sabemos, permiten una mayor sensibilidad y eficacia reguladoras.

32.9.3 Algunas características del proceso aeróbico energético

Los efectos de la prolongación del ejercicio favorecen el metabolismo aeróbico por mecanismos diversos, como la entrada de ADP en las mitocondrias, la acción de la adenosa-ina, de las hormonas, entre otros. La colaboración de otros órganos, como el hígado (véase el ciclo de Cori, Cap. 14), también se intensifica a lo largo del proceso aeróbico.

Respecto a la acción de diferentes hormonas, se comenta en uno de los apartados siguientes. En todo caso, la respuesta hormonal escalonada favorece la oxidación aerobia de los sustratos, consumiéndose el glucógeno muscular, preferentemente, al comienzo del esfuerzo. En el ejercicio aeróbico intenso se favorece la liberación de adrenalina; en el prolongado, ocurre lo mismo con el glucagón. La interacción de todas estas hormonas y la de los órganos implicados en su producción o en la respuesta a su acción, principalmente, glándulas suprarrenales, páncreas, músculo, tejido adiposo e hígado, hace que el resultado final sea la facilitación del metabolismo oxidativo de los hidratos de carbono y las grasas.

32.10 HORMONAS Y EJERCICIO

Durante el ejercicio, el organismo se enfrenta con una serie de necesidades fisiológicas variadas, derivadas sobre todo del aumento del ritmo de utilización de energía, y de una

pérdida de agua, en forma de sudor, que puede llegar a ser muy fuerte. La movilización de las reservas energéticas del tipo apropiado y el mantenimiento de una homeostasis del medio interno requieren respuestas integradas. Por lo tanto, no es de extrañar que los niveles de muchas hormonas varíen de forma transitoria durante el ejercicio, para conseguir las adaptaciones metabólicas y fisiológicas necesarias.

Estos cambios, que afectan sobre todo a hormonas reguladoras del metabolismo energético y del equilibrio hídrico, son de magnitud variable, en función de distintos factores, como el tipo y la duración del ejercicio, las condiciones externas, y el grado de entrenamiento del sujeto, lo que complica su estudio. A continuación, mencionaremos brevemente los cambios adaptativos hormonales mejor caracterizados, agrupados en tres bloques; uno para los relativos a las disponibilidades de combustibles metabólicos; el segundo, dedicado al mantenimiento del equilibrio hídrico, y un tercero, para una serie de cambios, cuyo efecto fisiológico a corto plazo no está claro, pero que podrían contribuir a mejorar la respuesta frente a nuevos períodos de ejercicio.

32.10.1 Cambios hormonales relacionados con el metabolismo energético

Las principales fuentes de energía durante el ejercicio de cierta duración son los hidratos de carbono y las grasas, por lo que, lógicamente, las hormonas relacionadas con la regulación de su metabolismo son las protagonistas principales. Cuando el VO₂ alcanza valores próximos al 60% del máximo, entre otras respuestas, se incrementa la producción de catecolaminas: adrenalina, en la médula suprarrenal, y noradrenalina, por el sistema nervioso simpático. Además, ello conduce a una liberación menor de insulina y mayor de glucagón, lo que, a su vez, estimula la lipólisis en los adipocitos, incrementa la gluconeogénesis y la glucogenólisis, y reduce los procesos anaerobios, como la glucogenosíntesis y la lipogénesis, que podrían competir e interferir en la movilización de sustratos.

Estas hormonas, por tanto, cooperan para provocar un aumento de la disponibilidad de glucosa para el músculo mediante mecanismos que, en gran parte, ya han sido discutidos (véase el Cap. 16). Además, se produce, también, una elevación transitoria de cortisol, que vuelve a sus niveles basales tras pocas horas, en el caso del ejercicio prolongado. El cortisol aumenta el catabolismo de las proteínas, liberando aminoácidos que pueden ser utilizados por el hígado como fuente de energía y como precursores gluconeogénicos.

En cuanto al metabolismo de las grasas, aunque éstas contribuyen menos que la glucosa a cubrir las necesidades metabólicas durante el ejercicio, su movilización y consumo es muy importante en condiciones de ejercicios prolongados

y de resistencia. En este caso, la adrenalina, la noradrenalina y el cortisol contribuyen a la movilización de las reservas lipídicas, al activar la *TAG lipasa* del tejido adiposo. En consecuencia, la concentración de ácidos grasos libres aumenta de forma continua durante el ejercicio prolongado.

La acción combinada de las cuatro hormonas mencionadas permite una adaptación, a la vez, rápida y duradera. La rapidez de su instauración queda de manifiesto por el hecho de que la concentración sérica de glucosa aumenta de forma transitoria en un ejercicio intenso y explosivo, como el *sprint*, hasta valores del orden de 7 mM, mientras que la glucemia se mantiene muy cercana al valor de reposo, cercano a 5.4 mM, durante varias horas de ejercicio. A esta notable capacidad de adaptación podrían contribuir otros cambios hormonales peor caracterizados, como la elevación de los niveles de la hormona del crecimiento (GH) y de las hormonas tiroideas. Un resumen de la relación entre las hormonas y la actividad física se expone en la Figura 32-10.

32.10.2 Regulación hormonal del equilibrio hídrico

Durante el ejercicio, se producen movimientos importantes de líquidos que tienden a reducir el volumen del plasma. Estos cambios son de dos tipos. Por una parte, hay un desplazamiento neto de agua desde el plasma hacia los espacios

intersticial e intracelular, derivado del aumento de la actividad metabólica del músculo. Por otra, existe una pérdida de agua por sudoración, cuya finalidad es, esencialmente, refrigerar el organismo. El mantenimiento de la homeostasis del agua se realiza esencialmente por una regulación del equilibrio electrolítico y, en este caso, las hormonas clave son la aldosterona y la hormona antidiurética (ADH).

Cuando la actividad muscular estimula la sudoración, se produce una reducción inicial del volumen del plasma y del flujo sanguíneo, a través de la circulación renal. Esta reducción es el principal estímulo para la liberación por los riñones de *renina*, una proteasa que convierte un precursor, denominado angiotensinógeno, en la forma activa correspondiente, la angiotensina I, que seguidamente se transforma en angiotensina II. Este péptido promueve la liberación de aldosterona por la corteza suprarrenal. El principal efecto del mineralcorticoide es la reabsorción renal de sodio, y la consiguiente retención de agua, que contribuye a restituir el volumen de plasma. La reabsorción renal de agua está también promovida por la ADH, aunque en este caso, el estímulo que favorece la liberación de la hormona es distinto. En efecto, la ADH es liberada por la hipófisis posterior en respuesta a estímulos hipotalámicos, que, a su vez, dependen del incremento en la osmolaridad de la sangre.

El efecto combinado de los dos sistemas hormonales permite que, durante el ejercicio, el volumen del plasma se mantenga relativamente constante después de una pérdida inicial moderada, de alrededor del 10%.

32.10.3 Otros cambios hormonales durante el ejercicio

Los cambios en los niveles plasmáticos de hormonas observables durante el ejercicio son numerosos y complejos. Algunos de ellos, podrían relacionarse con la mejora de la capacidad del organismo de realizar nuevos ejercicios, es decir, con el entrenamiento. Por ejemplo, el ejercicio parece aumentar los niveles séricos de testosterona, lo que podría contribuir al aumento de la masa muscular. También, aumentan los niveles de GH. Además de actuar sobre el metabolismo energético, esta hormona facilita el desarrollo y el aumento de tamaño de la mayoría de los tejidos del organismo, y estimula la síntesis de proteínas. Por lo tanto, resulta evidente que los cambios en los niveles de las hormonas esteroideas y de la GH pueden contribuir a explicar el desarrollo de la musculatura y la mejora del rendimiento de los deportistas con el entrenamiento. Pero, también, da cuenta de su abuso mediante prácticas ilícitas de dopaje.

Lo mismo puede decirse de la *eritropoyetina*, una hormona producida por los riñones en respuesta al ejercicio y como parte de la adaptación a la altura. Esta hormona activa la producción de eritrocitos por la médula ósea y, por tanto,

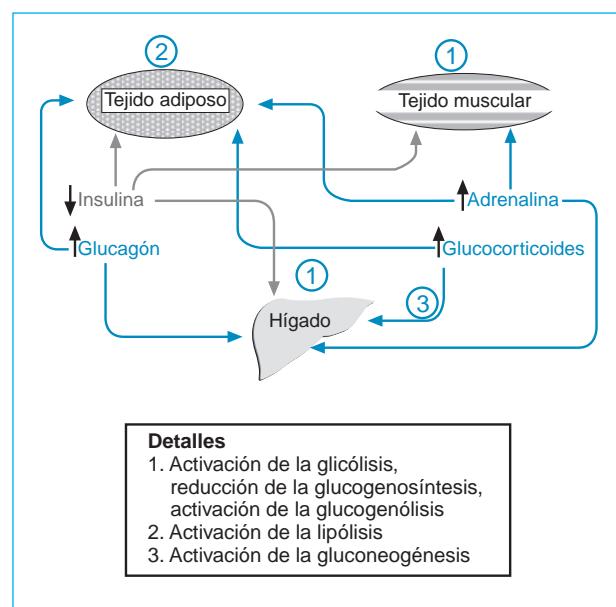


Figura 32-10. Respuesta hormonal al ejercicio aeróbico, en relación con órganos y tejidos. La consecuencia de los cambios hormonales se traduce, principalmente, en músculo (mayor glucogenólisis, mayor glicólisis), en hígado (mayor glucogenólisis, mayor glicólisis, mayor gluconeogénesis) y en tejido adiposo (mayor lipólisis).

aumenta la capacidad de transporte del oxígeno hasta el músculo, y parece haber sido utilizada masivamente como agente dopante en algunas especialidades deportivas.

32.11 LA CARRERA DEL MARATÓN

Éste es un ejemplo muy ilustrativo de la adaptación metabólica al ejercicio aerobio de larga duración. Los corredores de élite necesitan poco más de 2 horas para recorrer los 42 195 m de carrera, con un gasto energético medio de unas 20 kcal/minuto (equivalentes al uso de 5 g de hidratos de carbono o de 2.2 g de grasas por minuto), y un gasto energético total de unas 2400 kcal. Ello es posible gracias a un gran desarrollo y rendimiento del metabolismo aerobio, lo que se refleja en la gran proporción de fibras musculares de tipo I, aerobias, que poseen esos corredores (casi un 80%), mientras que un velocista de 100 m no suele alcanzar la cifra del 25%.

Según las cifras anteriores, la glucosa sanguínea y el glucógeno hepático no son suficientes para proporcionar la energía necesaria, por lo que se debe movilizar el glucógeno muscular y, sobre todo, favorecer la oxidación de los ácidos grasos. Ello hace que a lo largo del tiempo sea menor la proporción de hidratos de carbono metabolizados y que, paulatinamente, disminuya el cociente respiratorio y el rendimiento energético por litro de oxígeno consumido. Desde el punto de vista bioquímico, esas adaptaciones se consiguen a través de controles alostéricos sobre la glucógeno fosforilasa muscular, para favorecer la glucogenólisis (véase el Cap. 12), así como por medio de los correspondientes estímulos hormonales del tipo descrito en el apartado anterior.

En la Tabla 32-4 se exponen algunas cifras indicativas sobre estos procesos de adaptación, pudiéndose comprobar que se pasa de una participación energética de los hidratos de carbono de un 90%, al comienzo del esfuerzo, hasta menos de un 40%, al finalizar la carrera. Por otra parte, la aportación energética por proteólisis es prácticamente nula, y es interesante comprobar cómo, debido al menor rendimiento energético, por litro de oxígeno, de las grasas, respecto a los hidratos de carbono, el corredor, para mantener constante la

producción de ATP, ha de incrementar el consumo de oxígeno por unidad de tiempo a lo largo de la carrera.

32.12 DEUDA DE OXÍGENO

Para poder recuperarse, después de realizado un esfuerzo, hay que reponer, entre otros: los niveles basales de ATP, CP y glucosa que se hayan consumido en transformaciones anaerobias; los metabolitos, principalmente hidratos de carbono y grasas, metabolizados en forma aerobia; el balance iónico, entre otros. Para todo ello es necesario obtener ATP mediante la fosforilación oxidativa, es decir, consumir una cantidad extra de oxígeno respecto a las necesidades energéticas de ese período, lo que justifica el empleo del concepto *deuda de oxígeno*, que es la cantidad extra que se consume del mismo, durante la fase de recuperación, respecto al que consumiría en situación «normal» (sin que se hubiese realizado el ejercicio anterior).

Tras finalizar un ejercicio, los niveles basales de metabolitos energéticos no se recuperan inmediatamente, y el tiempo necesario para alcanzar nuevamente la situación de equilibrio depende de la intensidad del ejercicio. Si éste ha sido moderado o leve y de tipo aerobio, la recuperación es rápida, de unos pocos minutos, cosa que no ocurre tras una actividad muy intensa, en cuyo caso, la fase de recuperación puede durar varias horas.

Otro concepto relacionado con el anterior es el de *déficit de oxígeno*, que es la diferencia existente entre el oxígeno consumido durante el ejercicio y el que se habría consumido si desde el comienzo del mismo se hubiese alcanzado el estado estacionario (Fig. 32-11). La causa principal de este déficit es el uso anaerobio de las reservas energéticas. En los casos de ejercicio moderado, los valores de *déficit* y de *deuda* de oxígeno suelen ser muy parecidos, pero en los ejercicios muy intensos la *deuda de oxígeno* supera ampliamente el valor del *déficit de oxígeno*.

En las curvas de recuperación, como la de la Figura 32-11, la primera fase, o *componente rápido*, se considera que corresponde a la recuperación muscular de los niveles de

Tabla 32-4. Adaptación metabólica energética de un corredor de maratón

	Peso corporal: kg	Glucemia: mM	Cociente respiratorio	% energía de grasas
Al comienzo	59.6	5.6	0.98	8
Hacia la mitad	58.0	4.4	0.82	55
Al final	57.4	3.4	0.77	74

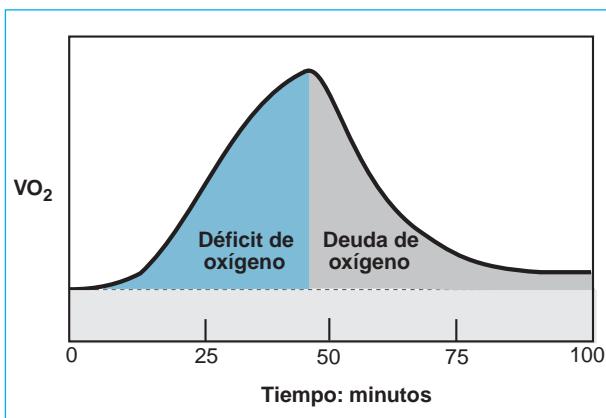


Figura 32-11. Evolución del déficit y la deuda de oxígeno en el ejercicio.

ATP y CP, así como a la restauración de la mioglobina y hemoglobina oxigenadas. La segunda fase de la curva, *componente lento*, se asocia parcialmente a la reconversión del lactato hasta glucógeno. Respecto a esto último, debemos recordar lo siguiente: mientras que la conversión de un mol de glucosa en dos de lactato supone la obtención de dos moles de ATP, la reconversión de los dos lactatos nuevamente en glucosa necesita la energía de hidrólisis de seis moles de ATP, por lo que, el ciclo glucosa → lactato → glucosa, lleva consigo un consumo neto de oxígeno, al igual que ocurre con el de glucógeno → glucosa → glucógeno. En cuanto a la última fase de la curva de recuperación, *componente ultralento*, en los casos de ejercicios muy intensos, no está suficientemente aclarada su causa bioquímica, ya que las deudas de oxígeno alcanzan valores muy por encima de los que teóricamente se pueden calcular para la simple recuperación de los niveles metabólicos de reposo.

32.13 LA FATIGA

El problema de la fatiga tras el ejercicio es muy complejo y posee un carácter plurifactorial. Es un mecanismo defensivo, expresión de una situación de fracaso de los procedimientos de regulación y adaptación a las condiciones adversas, derivadas de la realización de un ejercicio demasiado intenso. La sensación de fatiga se origina en el hipotálamo y la porción sensitiva del tálamo, y se expresa mediante una respuesta homeostática conducente a reducir la potencia o cesar el esfuerzo que se está realizando.

Desde el punto de vista bioquímico, el problema de la fatiga no está perfectamente delimitado. En los ejercicios de potencia sostenida, el metabolismo anaerobio de los hidratos de carbono produce la acumulación de lactato, pero no parece

que ello sea la causa de la fatiga que aparece en estas situaciones; la razón podría estar en la acumulación de protones, es decir, el descenso del pH concomitante a la producción de lactato, lo que ocasiona una disminución de la actividad *ATPasa miofibrilar*, una mayor inhibición de la *PFK* por el ATP, entre otras causas. El entrenamiento incrementa la capacidad amortiguadora de las proteínas musculares, lo que retrasa la aparición de la fatiga, y disminuye su intensidad.

En el ejercicio de resistencia aerobia, la fatiga está muy ligada al agotamiento de las reservas de los hidratos de carbono, es decir, del glucógeno muscular, por lo que se puede combatir con diversas medidas dirigidas a adelantar la oxidación de los ácidos grasos o atrasar el agotamiento del glucógeno como entrenamiento o dietas, estimuladores de la lipólisis.

32.14 EL ENTRENAMIENTO

El entrenamiento físico, repetición sistemática de una serie de actividades físicas, es un proceso más de adaptación homeostática capaz de producir importantes modificaciones morfológicas, funcionales y metabólicas, que afectan no sólo al sistema muscular, sino también al cardiovascular, respiratorio y neuroendocrino, con el resultado final de una mejora del rendimiento físico. Simplificando al máximo y ciñéndonos a los aspectos bioquímicos, el entrenamiento anaerobio tiene un efecto predominante local sobre los músculos implicados, mientras que el entrenamiento aerobio extiende sus efectos al metabolismo en general.

Así, en el *entrenamiento anaerobio aláctico* se incrementan, sobre todo, las reservas musculares de CP; algo menos, las de ATP, y casi nada, las de glucógeno. Las actividades enzimáticas que más aumentan son las de la transforilación (CK) y las implicadas en la formación de enlaces actina-miosina durante la actividad contrátil muscular (*miosina quinasa*). En el *entrenamiento anaerobio láctico*, las reservas más elevadas son las del glucógeno muscular, y se incrementan las actividades de diversas enzimas glicolíticas. Respecto al entrenamiento aerobio y el alternaente, o de intervalos, en la Tabla 32-5 se exponen algunas de las modificaciones que tienen lugar, siendo destacable el incremento en el número, el tamaño (en jóvenes) y la actividad de las mitocondrias musculares, el considerable aumento, hasta duplicarse, de algunas de las enzimas claves de los procesos aerobios (enzimas lipolíticas), el aumento muy notable del contenido en mioglobina del músculo esquelético, o el incremento del flujo sanguíneo y de la oxigenación muscular. Todo ello hace que se movilicen mejor las reservas grasas y se puedan dosificar adecuadamente las de los hidratos de carbono, y contribuye a conseguir un mayor potencial aerobio para las fibras musculares.

Tabla 32-5. Entrenamiento y respuestas energéticas bioquímicas

	<i>Aerobio</i>	<i>Anaerobio</i>	<i>De intervalos</i>
Mitocondrias (número y volumen)	+++	=	+
Cadena respiratoria	+++	=	+
Enzimas glicolíticas	=	+	+
Enzimas lipolíticas	++	=	+
Creatina quinasa	=	=+	+
Reservas de CP y ATP	=	=+	+
Reservas de glucógeno muscular	=+	=+	+
Reservas de triglicéridos musculares	++	=	+
<i>Miosina quinasa</i>	=	++	+
Mioglobina	+		
Tolerancia a la acidosis	+	+	+
Liberación hepática de glucosa	++	=	+
Glucogenólisis hepática	+++	=	+
Gluconeogénesis hepática	+++	=	+
Captura hepática de precursores gluconeogénicos	++	=	+

RESUMEN

- Existen tres tipos de músculos: estriado o esquelético, de contracción voluntaria; liso, de contracción involuntaria y cardíaco, de contracción involuntaria.
- En el músculo esquelético, la unidad funcional de contracción es el sarcómero, que está determinada por dos clases de filamentos proteicos que interaccionan recíprocamente: filamentos gruesos, constituidos fundamentalmente por miosina, y filamentos delgados, que contienen actina, tropomiosina y troponina.
- La contracción muscular en el músculo esquelético se produce por interacción de actina y miosina con el consumo de ATP. Es un proceso que se encuentra regulado por el ion calcio.
- Existen dos tipos de músculo liso: el unitario, o visceral, y el multiunitario. En su contracción, también intervienen la actina y la miosina y la regulación se produce por el ion calcio, unido a la calmodulina.
- Los microfilamentos, los filamentos intermedios y los microtúbulos son otras estructuras motrices implicadas en la morfología y el transporte celular. Las cinesinas y dineínas contribuyen al transporte intracelular a través de los microtúbulos.
- Los cilios y flagelos de los eucariotas presentan un mismo diseño estructural, con un haz de microtúbulos, que constituyen el axonema.
- El ATP es la fuente energética directa que posibilita la contracción muscular y puede proceder de las propias reservas musculares, de las de fosfato de creatina o, más indirectamente, como consecuencia de los procesos catabólicos aerobios de las grasas, aerobios y anaerobios de la glicólisis y, en menor medida, del catabolismo aerobio de los aminoácidos.
- Las reservas musculares de ATP y fosfato de creatina se caracterizan por la posibilidad de su uso inmediato y masivo, pero en cantidad tan limitada que su porcentaje es ínfimo, en relación con las reservas totales energéticas. La glicólisis anaerobia puede producir ATP con bastante rapidez e intensidad, pero con una fuerte limitación global. El metabolismo aerobio puede proporcionar de un modo continuado una cantidad de energía bastante constante, pero con una intensidad muy inferior a la de los mecanismos anteriores.
- Las limitaciones energéticas, en cada caso vienen determinadas por la cantidad de las reservas, de algunas de las enzimas catabólicas o de la accesibilidad de oxígeno. En todo caso, el consumo energético varía en un amplio rango, de acuerdo con el tipo de actividad desarrollada y la adaptación metabólica se realiza mediante mecanismos de regulación y control muy precisos. La adaptación metabólica del corredor de maratón es un claro ejemplo de ello.
- Durante el ejercicio se producen múltiples cambios hormonales que tienden, sobre todo, a regular la disponibilidad de los combustibles metabólicos y el equilibrio hídrico y electrolítico.
- El ejercicio produce una liberación continua de adrenalina, noradrenalina y glucagón, y más transitoria, de cortisol. Estos cambios estimulan la gluconeogénesis, la glucogenólisis, la movilización de las grasas y en menor medida, la degradación de las proteínas. En conjunto, aseguran la disponibilidad de los combustibles metabólicos con cambios mínimos en la glucemia.
- Durante el ejercicio se produce una caída inicial del volumen del plasma, debida a una redistribución del agua hacia los espacios intersticial e intracelular, así como a una pérdida continua de agua por la sudoración. Las pérdidas de agua se limitan por acción de la aldosterona y la ADH, que promueven la retención de sodio y agua en el riñón y disminuyen la diuresis.
- Otros cambios observables en el ejercicio, como el incremento de los niveles de testosterona, ADH y eritropoyetina, pueden contribuir a la mejora del rendimiento que se produce como consecuencia del entrenamiento.
- Los distintos tipos de entrenamiento influyen sobre los procesos metabólicos, ayudando a que se realice más eficazmente la adaptación, se obtenga un mayor rendimiento y se reduzca la fatiga.

EVALUACIÓN

1. (A). Ultraestructura del músculo esquelético:
 - a. El sarcómero es la membrana excitable eléctricamente que rodea a las fibras musculares.
 - b. El sarcolema es cada una de las unidades de repetición de las miofibrillas.
 - c. El citoplasma de las células musculares se denomina sarcosoma.
 - d. En el músculo blanco, las mitocondrias son menos abundantes que en el músculo rojo.
 - e. Las células musculares contráctiles son mononucleadas.

2. (B). Respecto a los sarcómeros:
 1. Son las unidades de repetición existentes a lo largo del eje de las miofibrillas.
 2. La banda I es más oscura que la banda A.
 3. La zona H está situada en el centro de la banda A y es más clara que ésta.
 4. La línea H estáemplazada en el centro de la zona H.

a b c d e

3. (B). Estructura molecular de los sarcómeros:
 1. La banda A está compuesta de filamentos gruesos y delgados.
 2. Los filamentos delgados se componen, fundamentalmente, de actina, tropomiosina y troponina.
 3. En el músculo en reposo, en la sección transversal de la línea M de la banda A, sólo se observa la presencia de filamentos gruesos.
 4. Los filamentos gruesos contienen miosina.

a b c d e

4. (C). La tropomiosina posee un papel importante en la organización muscular de los filamentos delgados PORQUE es la proteína que posee lugares específicos para unirse con los iones de calcio que controlan la contracción muscular.

a b c d e

5. (A). El flujo de la información para iniciar la contracción muscular sigue el camino:
 - a. Calcio → tropomiosina → troponina → actina → miosina.
 - b. Troponina → calcio → tropomiosina → miosina → actina.
 - c. Calcio → troponina → tropomiosina → miosina → actina.
 - d. Calcio → troponina → tropomiosina → actina → miosina.
 - e. Troponina → tropomiosina → calcio → miosina → actina.

6. (C). Durante la contracción muscular se producen cambios en los sarcómeros, que pueden acortarse considerablemente, PORQUE, tanto los filamentos gruesos, como los delgados disminuyen su longitud hasta un 50%.

a b c d e

7. (B). La troponina (Tn):
 1. Está compuesta de varias subunidades polipeptídicas diferentes.
 2. La Tn C se puede unir a iones de calcio y sufrir cambios conformacionales.
 3. La Tn I se une a la actina.

4. La Tn T participa en el enlace con la tropomiosina.

a b c d e

8. (A). Respecto a las reservas energéticas disponibles para las células musculares:
 - a. La máxima cantidad de ATP almacenada en el tejido muscular suele ser del orden de 5 micromoles por gramo.
 - b. En términos energéticos, en una persona normal, el ATP de su tejido muscular representa en total un valor aproximado de 1 kcal.
 - c. Las reservas totales musculares de fosfato de creatina no suelen superar el equivalente a 5-6 kcal.
 - d. El glucógeno global presente en todo el tejido muscular no suele superar los 500 gramos.
 - e. Todo lo anterior es cierto.

9. (B). Un individuo normal, desde su inicio, realiza un ejercicio en condiciones de máximo esfuerzo. A lo largo del tiempo sucederá:
 1. El ATP consumido por unidad de tiempo se mantendrá constante.
 2. Durante los primeros 10 segundos de esfuerzo, la mayor cantidad de ATP procede de la glicólisis anaerobia.
 3. Hasta pasados 5 minutos, los sistemas aerobios no proporcionan tantos ATP como los anaerobios.
 4. La glicólisis anaerobia sigue proporcionando cantidades considerables de ATP, incluso, después de los 10 primeros minutos.

a b c d e

10. (A). Reguladores del aporte energético anaerobio:
 - a. El AMP inhibe la *fosfofructoquinasa*.
 - b. La adrenalina activa la glucogenólisis.
 - c. Los iones de amonio inhiben la *fosfofructoquinasa*.
 - d. El ciclo de sustrato F6P/1,6-FBP se paraliza a fin de regular el proceso.
 - e. Es cierta más de una afirmación.

11. (B). Bioquímica del entrenamiento. Como consecuencia del mismo se suele incrementar:
 1. En el anaerobio, las enzimas glicolíticas.
 2. En el aerobio, la *creatina quinasa*.
 3. En el aerobio, las enzimas lipolíticas.
 4. En el anaerobio, la glucogenólisis hepática.

a b c d e

12. (B). Respuestas hormonales durante el ejercicio:
 1. La glucogenólisis y gluconeogénesis están estimuladas durante el ejercicio.
 2. La eritropoyetina estimula la producción de eritrocitos por la médula ósea.
 3. Durante el ejercicio, los niveles séricos de cortisol aumentan de forma transitoria, y los de adrenalina y noradrenalina, de forma continua.
 4. La secreción de hormona antidiurética (ADH) se estimula por el sistema renina-angiotensina.

BIBLIOGRAFÍA

- Astumian RD: Motores moleculares. *Inv y C* 2001; septiembre: 40-48.
- Andersen JL, Schjerding P, Saltin B: Bioquímica del rendimiento atlético. *Inv y C* 2000; noviembre: 4-13.
- Cross RA: The kinetic mechanism of kinesin. *TiBS* 2004; 29: 301-309.
- Hirokawa N, Takemura R: Biochemical and molecular characterization of diseases linked to motor proteins. *TiBS* 2003; 28: 558-565.
- Kull FJ, Endow SA: A new structural state of myosin. *TiBS* 2004; 29: 103-106.
- Becerro M, Lozano JA: Degradación de las proteínas. Envejecimiento y ejercicio. *Ejercicio, salud y longevidad*. Junta de Andalucía 2004: 101-114.

33.1. INTRODUCCIÓN

Todos los animales captan del medio externo información esencial para su supervivencia, a través de los sentidos. Los 5 sentidos principales se basan en 3 tipos de señales: la luz (señal electromagnética), captada por células fotorreceptoras de la retina; las señales de presión mecánica (sonido y tacto), por las mecanorreceptoras del oído y de la piel; y las señales químicas (sabores y olores), por las células quimiorreceptoras del gusto y el olfato.

Independientemente de la naturaleza del estímulo primario, fotónico, mecánico o químico, la información es transformada rápidamente en señal eléctrica para integrarse con la que, simultáneamente, se genera desde el medio interno. En ese medio interno existen sensores que vigilan en los líquidos biológicos el nivel adecuado de metabolitos, sales y hormonas, así como otros centros de control que transmiten sensaciones variadas como emociones, estados de ánimo, ansiedad, dolor o vigilia, todo ello, también, en forma de señal eléctrica. La integración de las señales externas e internas da básicamente, como resultado final, una respuesta muscular, una secreción endocrina o una modificación relacionada con los procesos del aprendizaje y la memoria. Los mecanismos de integración tan sólo se conocen con cierto detalle en animales muy simples, como el caracol marino *Aplysia*, con unos pocos cientos de neuronas, y son bastantes desconocidos a nivel de complejidad superior, como el ser humano.

Aunque los egipcios relacionaron esta capacidad de integración con el hígado y el corazón, fue Aristóteles el primero que la asoció con el cerebro. En realidad, el tejido responsable es una red celular extendida por todo el cuerpo, y formada por el *sistema nervioso central* (SNC), el *sistema nervioso periférico* (SNP) y el *sistema nervioso autónomo* (SNA). El primero consta del encéfalo (con sus tres partes: cerebro, cerebelo y bulbo raquídeo) y la médula espinal, mientras que el SNP está formado por ganglios y prolongaciones nerviosas. El sistema autónomo consta del simpático y del parasimpático.

Las células más características del sistema nervioso son las *neuronas*. El estudio, realizado en sus inicios por

Santiago Ramón y Cajal y reflejado en el libro *Textura del sistema nervioso del hombre y los vertebrados*, es, sin duda, la mejor contribución a la ciencia escrita originalmente en castellano. En un ser humano adulto existen más de 10^{12} neuronas. Este número disminuye muy lentamente con la edad porque estas células van perdiendo su capacidad de regeneración. Si la comunicación intercelular es importante en cualquier tejido, entre las neuronas constituye su propia esencia. Para lograrlo, las neuronas se ramifican formando una red de conexiones intercelulares, o *sinapsis*, cifradas, aproximadamente, en una media de 1000 sinapsis por célula, aunque algunos neurólogos piensan que ésta es una estimación baja. La comunicación se realiza por mecanismos fisicoquímicos muy rápidos, precisos y versátiles, conocidos en su conjunto como *neurotransmisión*.

33.2 ORGANIZACIÓN Y CÉLULAS DEL SISTEMA NERVIOSO

El sistema nervioso está formado, básicamente, por dos tipos de células, las *gliales* y las *neuronas*. Las primeras ocupan el 90% del volumen total del tejido. Tienen múltiples funciones, entre las que destacan las de guiar el crecimiento del sistema durante su desarrollo y facilitar la navegación axonal, necesaria para la plasticidad del sistema, así como sostener, proteger y nutrir el sistema nervioso, retirar las sustancias tóxicas y, en resumen, modular la acción neuronal. Existen muchos subtipos de células gliales, pero dos grandes grupos se diferencian, básicamente, por su tamaño: la *macrogli* (10-20 μm de diámetro) y la *microgli* (2-3 μm). Entre las primeras destacan los *astrocitos*, los *oligodendrocitos* en el SNC y las *células de Schwann* en el SNP.

Las neuronas son las células que llevan a cabo las funciones nerviosas más especializadas. Sus características principales son: la capacidad de transmitir impulsos eléctricos, el considerable gasto energético que realizan para llevar a cabo esa generación continua de impulsos, la plasticidad de su forma y su casi incapacidad para dividirse. La forma de las neuronas es irregular y muy variable, adaptada a la localización y función de cada una, pero siempre se distinguen al

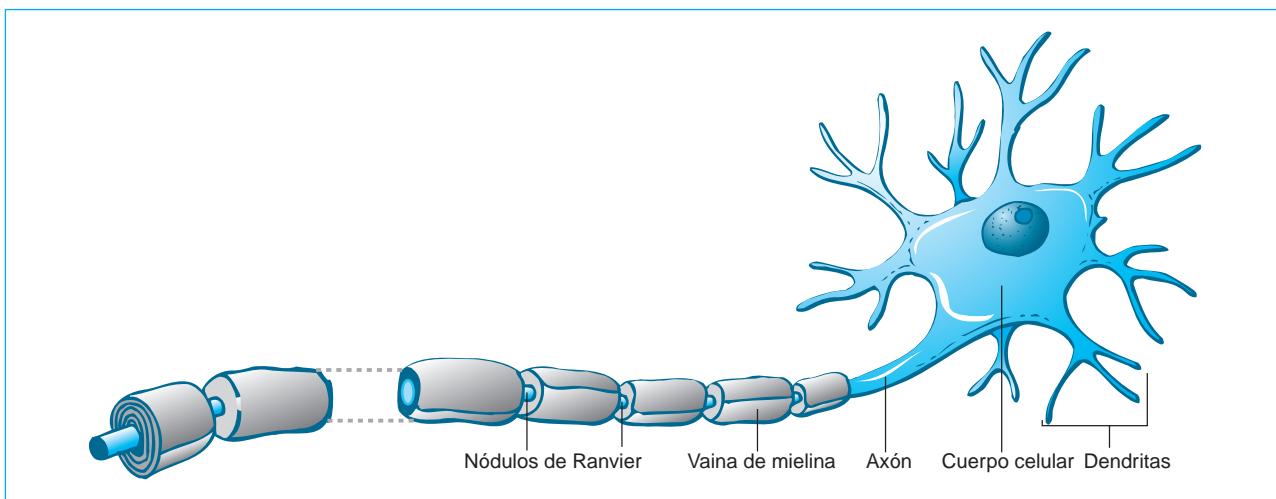


Figura 33-1. Esquema de una neurona típica, con su axón recubierto de vainas de mielina, separadas por los nódulos de Ranvier y el cuerpo celular con las dendritas.

menos tres partes: el *cuerpo celular*, las *dendritas* y el *axón* (Fig. 33-1).

El *cuerpo celular* contiene el núcleo y la mayor parte del citosol, las mitocondrias, los ribosomas y otros suborgánulos, como el retículo endoplásmico y Golgi, u otros específicos de algunas neuronas, como los cuerpos de Lewis o la sustancia de Nissl. Sin embargo, casi todas esas estructuras tienen un movimiento continuo, generalmente, anterógrado, o sea, hacia las ramificaciones periféricas de la célula. Las *dendritas* son la mayor parte de las numerosas ramificaciones que salen del *cuerpo neuronal*, normalmente, con una función receptora de las señales provenientes de otras neuronas. El *axón* es la rama más larga e importante de la neurona, por donde normalmente se transmite el impulso eléctrico a otras neuronas. En las neuronas espinales de los seres humanos, que prolongan su *axón* hasta las extremidades, puede llegar a medir cerca de 1 m de longitud. A pesar de este esquema simple para una neurona modelo, con *dendritas receptoras* y *axón emisor*, existen neuronas de formas muy variadas, con *dendritas emisoras* o neuronas con más de un *axón*.

Por su gran longitud, el *axón* es la parte más sensible de las neuronas. En todos los animales superiores está recubierto por la *mielina*, que es un sistema multilamelar discontinuo de membranas concéntricas. Esta multicapa es un complejo proteolípídico blanquecino (lo que hace que la *sustancia blanca* deba su nombre a que es rica en mielina y, por tanto, en haces de prolongaciones axónicas), con mayor riqueza en lípidos que la membrana plasmática neuronal. La mielina se sintetiza en las células gliales vecinas al *axón*, en los oligodendrocitos del SNC y en las células de Schwann del SNP. Las discontinuidades entre los fragmentos de mielina, donde

la membrana axónica está expuesta al líquido exterior, se llaman *nódulos de Ranvier* (Fig. 33-1).

33.3 PROTEÍNAS DE LA MEMBRANA NEURONAL

En las prolongaciones axónicas de las neuronas del SN de animales superiores, las zonas de la membrana neuronal cubiertas por la vaina de mielina son relativamente pobres en proteínas funcionales, pero contienen algunas estructurales, entre las que abunda la *fodrina*. Sin embargo, en los nódulos de Ranvier y las terminales sinápticas, la membrana es muy rica en proteínas funcionales, entre las que destacan los *canales iónicos*, las *bombas iónicas* y los *receptores*.

Los *canales iónicos* son proteínas que permiten el paso selectivo de iones a favor de gradiente, sin precisar directamente energía. Son los responsables de los cambios en la permeabilidad iónica que presenta la membrana neuronal. Tales cambios se deben a variaciones en la conformación molecular de la proteína que forma el canal, inducidas, a su vez, por una señal externa. Según la naturaleza de la señal, existen dos tipos:

- *Canales regulados por voltaje*: son aquéllos que responden a variaciones del potencial de membrana. Son los canales que participan en la transmisión intraneuronal del impulso nervioso.
- *Canales regulados por ligando*: son aquellos cuya conformación cambia por unión de un ligando a receptores específicos de membrana. Participan en la transmisión interneuronal, es decir, en las sinapsis químicas entre dos células.

Las características más importantes de los canales son:

- Necesitan que la señal tenga un valor mínimo, o umbral, para cambiar su conformación. Variaciones de potencial muy pequeñas o uniones débiles de ligando no producen cambios en la permeabilidad iónica de la membrana.
- Son de respuesta rápida y cooperativa. Cuando la señal alcanza el valor umbral, todos los canales específicos de ese ion situados en la misma zona de la membrana cambian su permeabilidad.
- Son saturables (respuesta de todo o nada). Si la señal alcanza el valor umbral, la respuesta final siempre tiene la misma magnitud.

Las *bombas iónicas* son proteínas que concentran iones contra gradiente con gasto de energía, la cual se obtiene de la hidrólisis del ATP. La más abundante es la *ATPasa de Na⁺/K⁺*, que en cada ciclo bombea 2 K⁺ hacia el interior y 3 Na⁺ hacia el exterior celular por cada molécula de ATP hidrolizado (Fig. 10-6).

Los *receptores* son proteínas que existen fundamentalmente en las terminales sinápticas con capacidad para unir neurotransmisores con gran afinidad y especificidad. La unión del neurotransmisor al receptor hace variar el potencial de la membrana o el metabolismo neuronal.

33.4. LOS FLUJOS IÓNICOS Y LA NEUROTRANSMISIÓN INTRANEURONAL

33.4.1 El potencial de reposo

La base iónica de la neurotransmisión es el potencial eléctrico que existe a ambos lados de la membrana neuronal. La neurona presenta grandes diferencias entre las concentraciones iónicas intra y extracelular (Tabla 33-1). La concentra-

Tabla 33-1. Concentraciones iónicas (mM) intracelulares y extracelulares en 2 líquidos biológicos de la rata y el calamar

<i>Ion</i>	<i>Neurona de rata</i>	<i>Sangre de rata</i>	<i>Axón de calamar</i>	<i>Hemolinfa calamar</i>
K ⁺	140	4	400	20
Na ⁺	12	140	50	440
Cl ⁻	4	110	50-100	500
Ca ²⁺	< 0.001	2	< 0.001	10
Proteinato ⁿ⁻	140	9	300	—

ción citosólica de K⁺ es mucho mayor que en el medio extracelular, mientras que las concentraciones intracelulares de Na⁺, Cl⁻ y Ca²⁺ son bastante menores que las extracelulares.

Esta asimetría se debe a la permeabilidad restringida y selectiva de la membrana, que crea en ella un potencial, denominado *potencial de reposo*. Su valor depende de las diferencias de concentración y, sobre todo, de la permeabilidad relativa para los distintos iones, principalmente, K⁺, Na⁺ y Cl⁻.

El potencial eléctrico generado por un catión viene expresado por la *ecuación de Nernst* (en milivoltios):

$$V = RT/zF \ln (c_o/c_i)$$

donde, c_o y c_i son las concentraciones respectivas del catión fuera y dentro de la célula; z, su carga; T, la temperatura absoluta, y R y F, dos constantes fisicoquímicas. Para aniones, la ecuación es idéntica, pero con el cociente inverso: c_i/c_o. A 37 °C, para iones monovalentes, la ecuación equivale a:

$$V = 59 \log (c_o/c_i)$$

Para comprender mejor el significado físico de este potencial, consideremos como ejemplo el potasio. La mayor concentración intracelular de K⁺ hace que este ion tienda a salir al espacio extracelular, a través de sus canales con una fuerza denominada *potencial químico*. La salida de algunos iones crea un exceso de cargas positivas en el exterior y cargas negativas en el interior, generándose una diferencia de potencial que se opone paulatinamente al potencial químico y dificulta la salida. Cuando la diferencia de potencial eléctrico iguala el potencial químico se llega al *potencial de equilibrio* para el K⁺. Obsérvese que el potencial de equilibrio se crea porque hay permeabilidad relativa, no porque hay impermeabilidad.

En condiciones fisiológicas, en la neurona participan varios iones y la ecuación válida es la de Hodgkin, Katz y Goldman, que modifica la de Nernst, teniendo en cuenta un factor relativo a las permeabilidades de fondo para cada uno de los iones. De acuerdo con los valores expresados en la Tabla 33-2, el potencial de reposo viene dado por la expresión:

$$V (\text{mV}) = 59 \log ([\text{Na}^+]_o + 100[\text{K}^+]_o + 50[\text{Cl}^-]_i / [\text{Na}^+]_i + 100[\text{K}^+]_i + 50[\text{Cl}^-]_o)$$

Su valor para una neurona de rata es, aproximadamente, -86 mV, semejante a los potenciales de equilibrio para el K⁺ y el Cl⁻, debido a que la membrana es mucho más permeable para estos iones que para el Na⁺. Los iones para los que la membrana es absolutamente impermeable no influyen en el potencial de reposo.

Tabla 33-2. Potencial de equilibrio y permeabilidad de los iones de Na^+ , K^+ y Cl^-

Iones	Potencial de equilibrio	Permeabilidad de los iones
Na^+	+ 65 mV	$P_{\text{Na}^+}: 5 \times 10^{-9} \text{ cm/s}$
K^+	- 91 mV	$P_{\text{K}^+}: \text{aprox. 100 veces mayor que } P_{\text{Na}^+}$
Cl^-	- 87 mV	$P_{\text{Cl}^-}: \text{aprox. 50 veces mayor que } P_{\text{Na}^+}$

33.4.2 El potencial de acción

Este potencial se genera cuando se produce en la membrana neuronal un aumento brusco (1000 a 5000 veces) de la permeabilidad para el Na^+ . En estas condiciones, el potencial de membrana se acerca al valor del potencial de equilibrio para el Na^+ (Tabla 33-2) y su valor cambia de potencial negativo a un valor positivo de magnitud variable, según el tipo de neurona y de la magnitud de la aproximación al

potencial de equilibrio para el Na^+ . El proceso se denomina *despolarización* y es muy rápido (aproximadamente, 0.1 ms). Inmediatamente después, la permeabilidad del Na^+ disminuye de nuevo y suele aumentar la permeabilidad para el K^+ , con lo que el potencial de membrana vuelve a valores negativos, más cercanos al potencial de equilibrio para el K^+ que al potencial de reposo. Este estado dura menos de 0.5 ms, y se denomina *hiperpolarización* (Fig. 33-2).

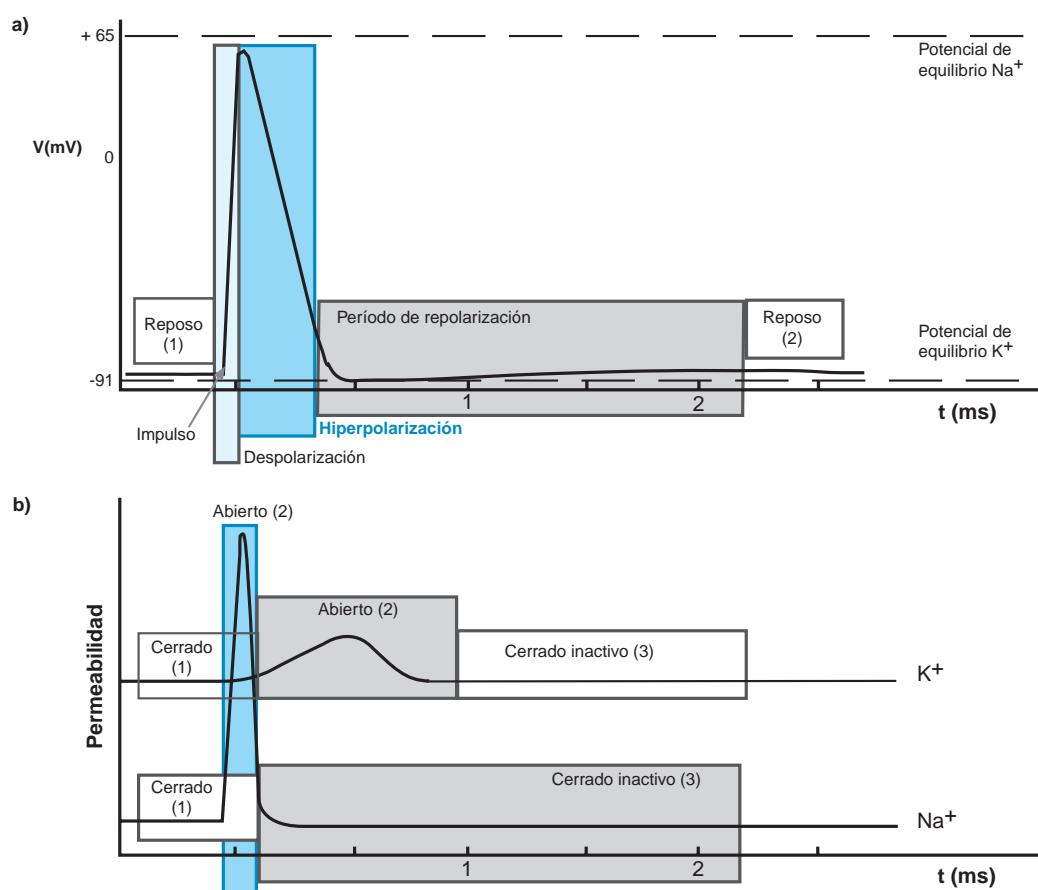


Figura 33-2. La transmisión del impulso nervioso. (a) Cambios en el potencial de membrana. El potencial de reposo sube muy rápido por la despolarización, pero, inmediatamente después, baja a valores que casi alcanzan el potencial de equilibrio para el K^+ (hiperpolarización) y, finalmente, tiende a recuperar el potencial de reposo (repolarización). (b) Cambios en la permeabilidad para el Na^+ y el K^+ ; la despolarización coincide con el gran aumento para el Na^+ y la hiperpolarización, con el aumento para el K^+ . Obsérvese que los canales, al cerrarse, pasan a un estado inactivado, y que antes de la estimulación, la permeabilidad para el K^+ es mucho mayor que para el Na^+ .

Finalmente, la permeabilidad del K^+ tiende a recuperar el valor normal, y se alcanza de nuevo el potencial de reposo, en unos 2-4 ms (período de *repolarización*, también denominado refractario).

33.4.3 Las migraciones iónicas durante el potencial de acción

De acuerdo con lo descrito anteriormente, los cambios en el potencial se producen localizados en pequeñas zonas de la membrana, y son consecuencia directa de cambios temporales en la permeabilidad iónica y no de cambios significativos en las concentraciones iónicas del medio extra- y el intracelular. Durante el período que transcurre entre dos potenciales de reposo, pasando por el potencial de acción y la hiperpolarización, cambian las permeabilidades para el Na^+ , el K^+ y, a veces, el Cl^- , pero las diferencias de concentración de estos iones a ambos lados de la membrana apenas se ven afectadas, porque el número de iones que migran es muy pequeño respecto al total. Además, las variaciones por efecto de varios potenciales de acción no son acumulativas porque la *ATPasa de Na^+ / K^+* trabaja en el sentido de restablecer las condiciones iniciales, al bombear estos iones contra gradiente.

33.4.4 Los canales iónicos

El aumento de permeabilidad de la membrana es el reflejo de cambios de conformación en los *canales iónicos*. Los dos más importantes son el de Na^+ (*canal adelantado*) y el de canal clásico de K^+ (*canal retardado*).

El *canal de Na^+* es el más abundante. En los nódulos de Ranvier llega a ser la proteína principal sobre la superficie de la membrana neuronal, ocupando hasta el 60% de la superficie (unos 10 000 canales por μm^2). Une con mucha afinidad gran cantidad de toxinas, lo que bloquea el canal y hace que estas toxinas puedan llegar a ser mortales por parálisis neuromotoria. Entre estas toxinas se encuentran la *tetrodotoxina* (obtenida del fugu, el pez globo del Japón) y la *saxitoxina* (presente en los microorganismos marinos causantes de las mareas rojas).

El canal de Na^+ tiene una arquitectura tipo, similar a otros canales regulados por voltaje. Consiste en unidades proteicas tetraméricas que rodean un poro central. Cada subunidad del tetrámero contiene seis fragmentos helicoidales transmembrana, siendo uno de estos fragmentos (concretamente, el cuarto, S4) el denominado sensor del voltaje, puesto que es capaz de detectar cambios pequeños en el potencial de membrana y de disparar los cambios de conformación de todo el sistema proteico que forma el canal y que se correlacionan con el estado abierto o cerrado.

En concreto, el canal de Na^+ presenta tres estados conformacionales distintos, que se corresponden con el cerrado activado (durante el potencial de reposo), el abierto (durante el potencial de acción) y el cerrado inactivado (durante la hiperpolarización y la repolarización) (Fig. 33-3). A nivel molecular y topológico, los tres estados parecen explicarse con el denominado *modelo de la bola de presidiario*, que propone que el dominio N-terminal en cada subunidad es globular y está unido al resto de la proteína por una región desplegada, o bisagra, que permite que se mueva libremente en el espacio acuoso. Esta zona globular puede situarse sobre el orificio del canal y bloquearlo, de forma que pueden existir dos estados cerrados, el activado o el inactivado, según que el dominio N-terminal globular esté, respectivamente, alejado y el poro estrechado por otras fuerzas relacionadas con la conformación de los fragmentos transmembrana o bloqueando el conducto iónico aun cuando éste conserve el diámetro preciso para el paso de Na^+ .

Los *canales de K^+* son menos abundantes que el de Na^+ y sobre todo mucho más heterogéneos. Los recientes avances en el Proyecto Genoma Humano, el clonaje de genes y la caracterización de los procesos de *splicing* alternativos, que dan lugar a varios ARNm de un mismo gen, han permitido caracterizar una gran cantidad de canales de K^+ diferentes, con efectos sobre la neurotransmisión y con funciones muy diversas (Recuadro 33-1). El que hemos llamado canal de K^+ clásico, o retardado se encuentra en la mayoría de los axones de los nervios periféricos acompañando al canal de Na^+ ,

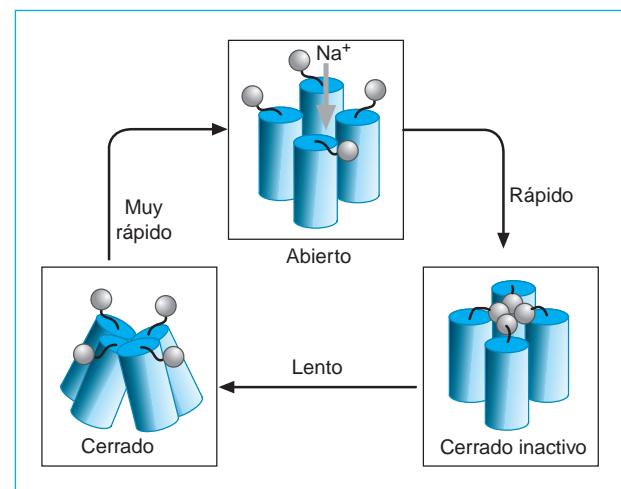


Figura 33-3. Los 3 estados conformacionales del canal de Na^+ , según el modelo de la bola de presidiario. El dominio N-terminal globular en cada subunidad está unido al resto de la proteína por una región bisagra que permite movimientos en la cara extracelular y el rápido bloqueo del poro del canal, después del cambio conformacional en el tetrámero que abre dicho poro.

Recuadro 33-1.**TIPOS Y ESTRUCTURA DE LOS CANALES DE POTASIO**

Los canales de K^+ son mucho más diversos que los de Na^+ , lo que ha complicado su estudio. Esta diversidad les hace ser muy importantes en un gran número de procesos de la fisiología general y celular. Se agrupan, actualmente, en tres familias, según su estructura, propiedades farmacológicas y mecanismos de activación/desactivación:

- a. *Regulados por voltaje.* Tetraméricos, con 6 fragmentos transmembrana por subunidad. Tienen sensores de voltaje. Existen 9 subfamilias: 4 Kv [Kv1 a Kv4]; 3 que, además, dependen del Ca^{2+} ; y 2 relacionados con el síndrome LQT, KCNQ y Eag.
- b. *Rectificadores internos.* Tetraméricos, con 2 fragmentos transmembrana por subunidad y no tienen sensores de voltaje intrínsecos. Al menos hay 6 tipos, Kir1.0 a Kir6.0 (K_{ATP}).
- c. *De doble poro.* Suelen ser diméricos, y son poco conocidos. Tienen 4 u 8 fragmentos transmembrana.

a. *Canales regulados por voltaje.* Son los mejor conocidos. A ellos pertenecen los canales que participan en la transmisión del potencial de acción de las neuronas neuromusculares (canales Kv), el primero que se clonó (en *Drosophila*) y el primero cuya estructura tridimensional fue descrita, por MacKinnon (premio Nobel, 2003). Sirven principalmente para:

- Agudizar el potencial de acción (los retardados).
- Regular la frecuencia de impulsos (los adelantados).

Se han identificado hasta 9 subfamilias, que se diferencian en la longitud y disposición de las 4 subunidades para formar el poro central, y en la presencia de una subunidad accesoria denominada β , que cuando está presente modifica sus propiedades. La selectividad para el K^+ radica en el fragmento peptídico H5,

una hélice anfipática análoga a la de otros canales regulados por voltaje.

La estructura típica del canal (45 Å de longitud) consiste en un corredor angosto de 18 Å, una cavidad interior de 10 Å de diámetro y otro corredor que acaba en la región H5, que moldea la parte externa del poro (30 Å de ancho). Tiene, al menos, 2 centros de unión para K^+ con aminoácidos de H5, que lo desolvatan y expulsan por fuerzas electrorrepulsivas (Fig. 33-4). La inactivación por despolarización prolongada se realiza por dos mecanismos. El más rápido es el de la bola de presidiario, por cambios del extremo N-terminal, que bloquea la boca del canal. El otro mecanismo es lento y supone un cambio conformacional en la zona C-terminal que también bloquea el canal.

Los bloqueantes más conocidos son el tetraetilamonio (TEA) y la 4-amino-

piridina (AP). Otros bloqueantes no específicos son péptidos de toxinas animales, como la charybdotoxina (escorpión), dendrotoxina (serpiente mamba) y apamina (abeja).

Los canales BK, IK y SK son subfamilias dependientes de voltaje pero activados por el Ca^{2+} intracelular, y su nombre deriva de las capacidades alta (big), intermedia (intermediate) y baja (small) de su conductancia. Los canales KCNQ fueron detectados por ser responsables del síndrome del QT largo (LQT1), que produce convulsiones neonatales benignas y epilepsia. La última subfamilia es la Eag, también, asociada con el síndrome LQT. Este canal se asocia en el corazón con la proteína MiRP1, que se integra en el poro y controla el ritmo cardíaco.

b. *Canales rectificadores internos.* Principalmente se encargan de:

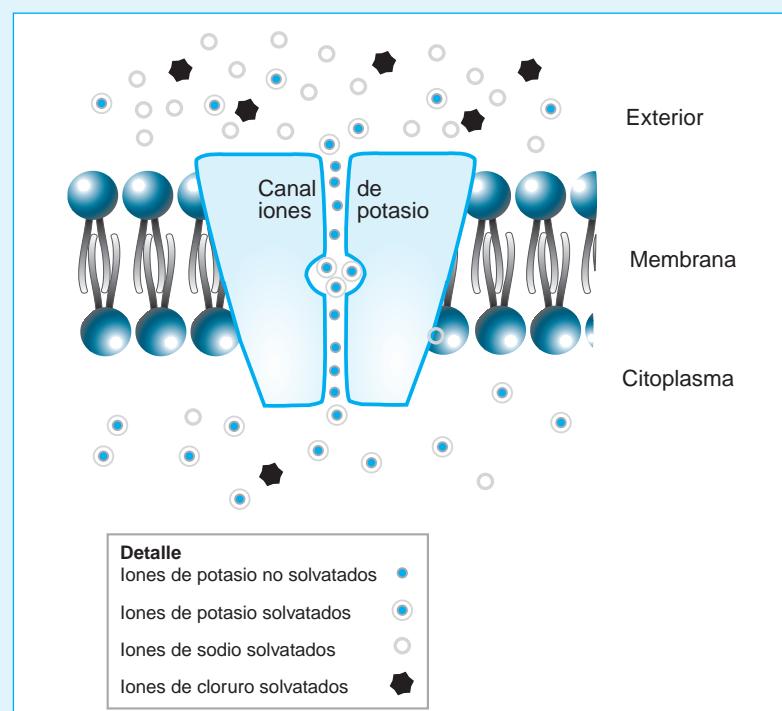


Figura 33-4. Modelo del canal de K^+ . La energía de solvatación/desolvatación del ion K^+ es la clave de la selectividad. Los iones se desolvatan para entrar en una cavidad central del canal donde se resolvantan y vuelven a desolvatarse antes de salir.

- Mediar en el importe de K^+ . Ya que participan en la entrada, rectifican la corriente a través de la membrana y ello les da su nombre. Esta función de rectificación es facilitada por el Mg^{2+} y las poliaminas. Su actividad decrece lentamente, pero se recupera por PIP₂.
- Estabilizar el potencial de reposo cerca del de equilibrio para el K^+ , rectificando las variaciones en la conductancia de la membrana debidas a la entrada de este ion.

Se asemejan a los regulados por voltaje en que son tetrámeros con región H5. También se bloquean por TEA y 4AP, pero presentan diferencias respecto de las toxinas animales. La *tertiapina* de abeja es muy potente para Kir1.0 y Kir3.0, pero

no bloquea los Kir2.0. Cada subfamilia está especializada en respuestas a efectores particulares. Por ejemplo, la Kir6.0 se asocia a receptores de *sulfonilureas* y es sensible frente al ATP, conectando la excitabilidad celular con su nivel de ATP, es decir, su estado metabólico.

Las células pancreáticas-β son un ejemplo ilustrativo de esta conexión. Controlan la liberación de insulina, en función de la glucemia. Toman glucosa de la sangre y la metabolizan, generando ATP en proporción a la glucosa captada. Por tanto, la glucemia alta produce mucho ATP, que cierra los canales K_{ATP}, activa la entrada de calcio y la liberación de insulina. Los hipoglucémicos *tolbutamida* y *glibenclamida* actúan mediante el bloqueo de los canales K_{ATP}

y se emplean con éxito en el tratamiento de la *diabetes mellitus de tipo II*.

c. *Canales de doble poro*. Esta familia es, incluso, más diversa que las anteriores. Tienen una gran capacidad de rectificar las variaciones de conductancia debidas a la salida de K^+ en las neuronas que mantienen en potencial de reposo cercano al de equilibrio para este ion. La proteína que forma el canal tiene 2 fragmentos H5 en una misma subunidad, a lo que debe su nombre. Son poco sensibles frente a TEA y AP, pero se activan por disolventes volátiles, como cloroformo, éter o halotano, cuya acción anestésica se debe al efecto sobre estos canales, que hiperpolariza la membrana y bloquea la emisión de potenciales de acción.

aunque es menos abundante que éste (al menos, 10 veces menos). La arquitectura de este canal es similar al del Na^+ , tetramérico y con 6 fragmentos transmembrana por subunidad. Se abre cuando se cierra el de Na^+ (de ahí, el nombre de canal retardado) y es el responsable de la hiperpolarización de la membrana. Los principales agentes bloqueantes son el *tetraetilamonio* y la *4-aminopiridina*, pero lo hacen con mucha menor afinidad que las toxinas del canal de Na^+ , y no son críticos para paralizar la neurotransmisión.

Los canales de Cl^- son mucho menos ubicuos y suelen estar presente sólo en algunos tipos de neuronas, y más en zonas del cuerpo neuronal y de las dendritas que en los axones. Participan en los impulsos inhibitorios por acoplamiento con los receptores de neurotransmisores GABA y de *glicina* (véase el apartado 33.4.6). Su velocidad de respuesta es semejante a la de los canales de Na^+ . Por tanto, en las zonas donde la membrana neuronal es rica en canales de Cl^- , la apertura simultánea de los canales de Na^+ y Cl^- produce efectos opuestos sobre el potencial. Como el Cl^- es un anión y presenta carga negativa, su flujo ocasiona la hiperpolarización de la membrana, oponiéndose a la despolarización que ocasiona el Na^+ .

Una visión simplificada neta del efecto del canal de Cl^- es la de que dificulta la despolarización causada por los de Na^+ y suprime la propagación de algunos potenciales de acción, por aumento del umbral de respuesta (véase el apartado siguiente). En general, las señales que abren los canales de Cl^- se llaman

inhibitorias, mientras que las señales que abren los de Na^+ se llaman excitatorias. El canal de Cl^- es modulado por una serie de fármacos con acción sedante, o de relajación muscular, entre los que destacan, por su extensísima utilización farmacológica, las *benzodiazepinas*.

33.4.5 La propagación del impulso

Cuando una señal superior al valor umbral llega a un nódulo de Ranvier, rico en canales de Na^+ , éstos se abren y la membrana se despolariza. Los iones de Na^+ que entran en el axoplasma se mueven por difusión pasiva y alteran el potencial en el nódulo de Ranvier más próximo, de forma que esto es detectado por el sensor de voltaje de los canales situados en ese nódulo y hace que cambie la conformación y que los canales de esa zona se abran en masa. La membrana se despolariza y el impulso nervioso se propaga de un nódulo a otro como una onda en discontinuo, es decir, a saltos entre dos nódulos (Fig. 33-5). Los axones de células nerviosas de animales invertebrados, que no presentan mielina ni nódulos de Ranvier llevan a cabo el mismo proceso de propagación en continuo.

Aunque la difusión pasiva del Na^+ que entra al axoplasma ocurre en ambos sentidos, anterógrada y retrógrada, la transmisión del impulso no revierte, debido a que los canales de Na^+ que quedan atrás se encuentran en estado inactivado y no responden a las señales tempranas. La duración de este período refractario es proporcional a lo que tarda la membrana

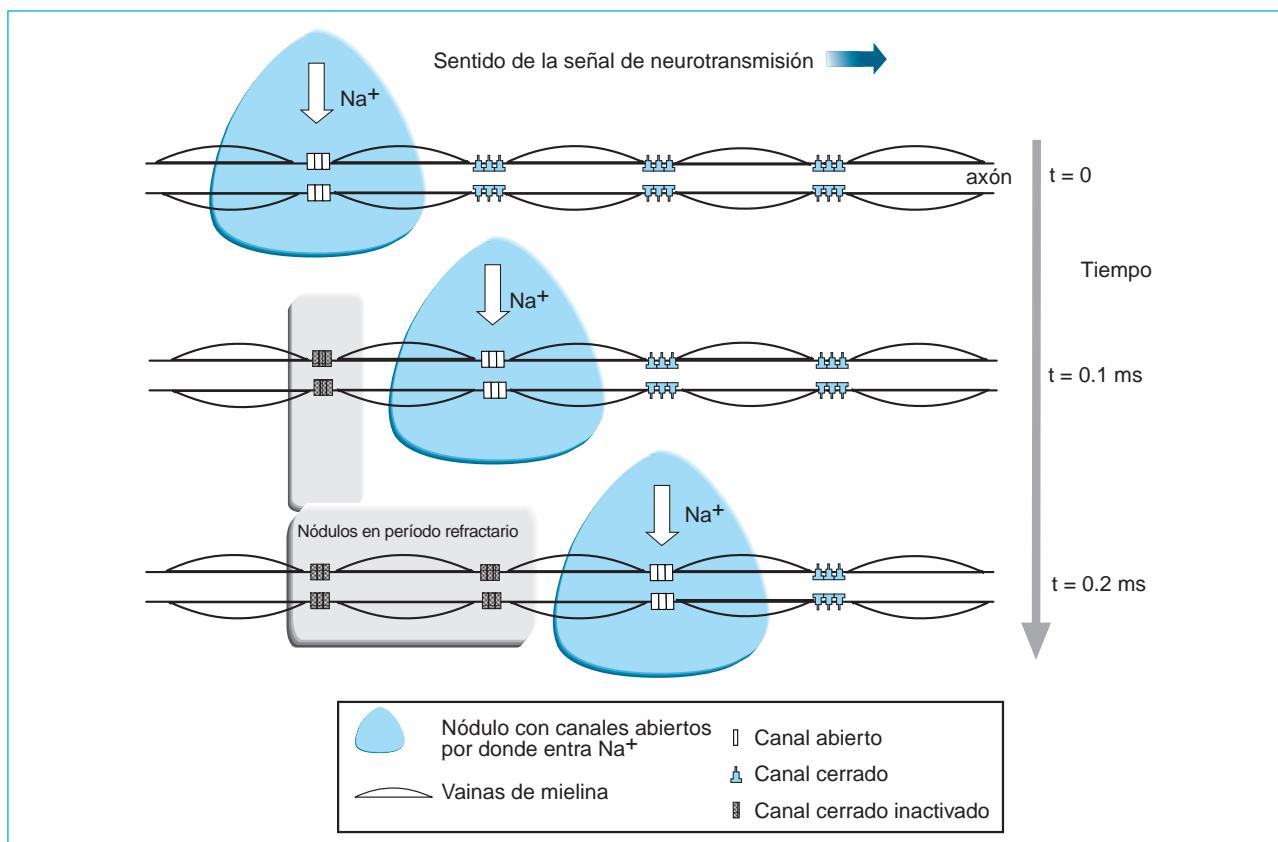


Figura 33-5. Esquema de la propagación del impulso nervioso entre 3 nodulos de Ranvier consecutivos (triángulos curvos, en fondo azul). En cada nódulo, los canales de Na^+ abiertos producen la entrada del ion, que cambia el voltaje y abre los del nódulo contiguo, en estado cerrado activado. Los canales que quedan atrás permanecen en estado cerrado inactivado (fondo gris), lo que permite la propagación en un sólo sentido.

en adquirir de nuevo el potencial de reposo o, lo que es lo mismo, en alcanzar el canal de Na^+ la conformación cerrada activada y en el caso en que participe el canal de K^+ retardado, el tiempo que éste tarda también en cerrarse.

Obviamente, la señal inicial producida por la difusión pasiva de iones Na^+ en el interior del axón se debilita con la distancia, y más allá de 3 mm presenta valores inferiores a los que puede detectar el sensor de voltaje del canal, o sea, a un valor umbral que conlleva que no se produzca respuesta, con la siguiente extinción del impulso. En la mayoría de los nervios de animales, la distancia media entre los nodulos de Ranvier oscila sobre 1 mm, distancia compatible con que la señal que les llega del nódulo anterior esté por encima del valor umbral.

33.4.6 La integración de señales

Una neurona motora de la médula es un ejemplo típico de célula nerviosa que recibe simultáneamente muchos impulsos a través de muchas sinapsis localizadas en diferentes zonas de su membrana, en las dendritas y en el soma perinu-

clear. Estos impulsos, excitatorios e inhibitorios, se deben integrar por dicha neurona para emitir un potencial único por el axón, que constituye la suma espacial y temporal de los impulsos individuales. Este impulso se llama potencial postsináptico principal y los mecanismos para su generación, desde todos los impulsos individuales recibidos, se denominan *integración de la señal*. El proceso de integración de los impulsos individuales en uno único es complejo y conocido parcialmente, pero se produce básicamente en la zona de la membrana denominada protuberancia axónica, que es la zona donde el axón se une al soma neuronal. Esta protuberancia es muy rica en canales diferentes de los típicos utilizados para la propagación del potencial de acción, axón abajo. Participan en la integración un *canal de Ca^{+2}* y dos *canales de K^+* diferentes del *retardado*, llamados *canales de K^+ temprano* y *canal de K^+ regulado por Ca^{+2}* .

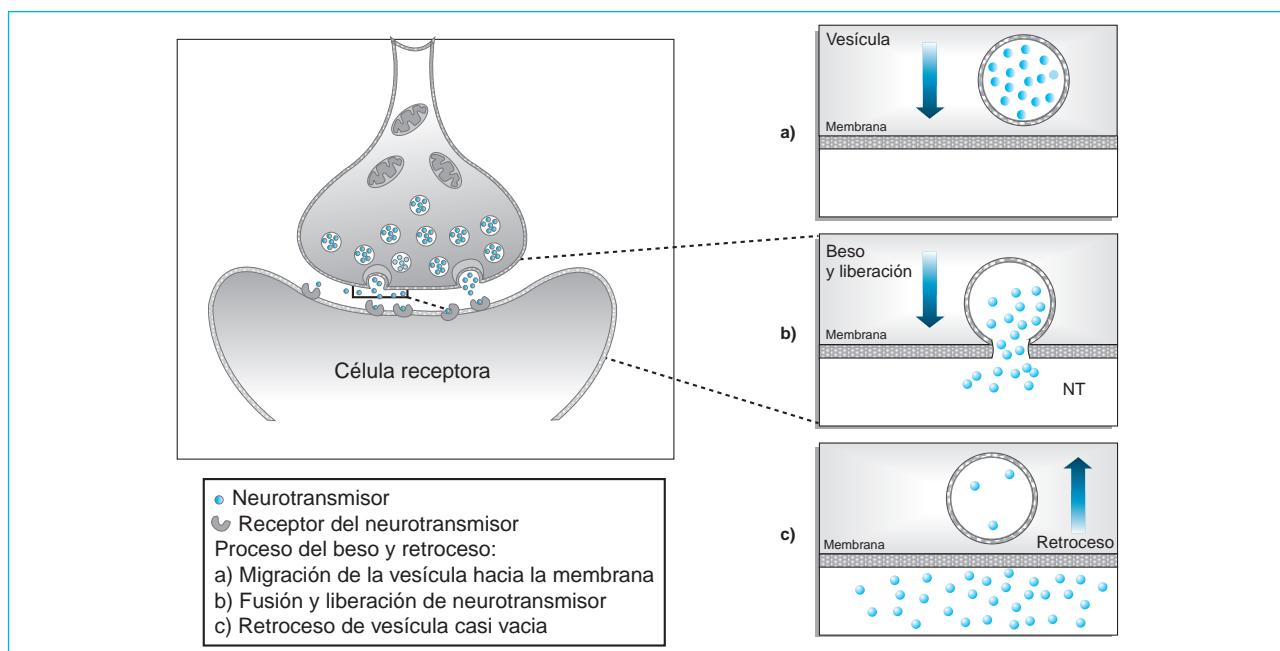
Lo importante de este sistema de canales es que permiten codificar la señal, o impulsos de salida, no sólo en intensidad sino, también, en clave de frecuencia de transmisión. Asimismo, para un potencial postsináptico constante, puede,

incluso, ir disminuyendo la frecuencia de impulsos que emite hasta ignorar el potencial postsináptico existente y anular la respuesta. En este último proceso de disminución se basa el fenómeno de adaptación a una señal. Por ejemplo, si aplicamos una presión constante sobre nuestro cuerpo, al principio la notamos por la emisión de impulsos en la unión neuromuscular, pero si esa presión es constante, nos adaptamos a ella y terminamos por ignorarla. La adaptación está relacionada con la apertura lenta de los canales de Ca^{2+} . A medida que éstos se abren, los *canales de K^+ regulados por Ca^{2+}* van quedando abiertos de forma permanente, y ello hace que se ignore la señal que inició el flujo de calcio y la apertura de tales canales.

33.5 LA COMUNICACIÓN INTERNEURONAL

Tras la propagación intraneuronal del impulso nervioso axón abajo, mediante cambios en la permeabilidad de zonas de la membrana, corresponde ahora conocer los mecanismos de comunicación interneuronal, es decir, cómo se produce la propagación del impulso de una neurona a otra. Existen varias formas de comunicación intercelular en el SN que son comunes con otros tejidos, aunque en este tejido tienen mayor significado por la propia esencia del sistema nervioso, que es la de comunicar señales desde una parte del organismo a otra. Son:

- El *contacto físico directo* entre moléculas situadas en membranas de células adyacentes, sin transferencia de material. Tal comunicación participa poco en la neurotransmisión, pero es esencial durante el desarrollo embrionario y el período de plasticidad neuronal, para orientar el crecimiento axónico.
- La *transferencia directa de moléculas y iones por uniones estrechas*, o *nexos*. Estas uniones se producen por poros (*conexones*), formados por hexámeros de *connexina* (hemicanales), que se sitúan encaramados entre las membranas de células contiguas. En el SN, son la base de las *sinapsis eléctricas*, cuya participación en la neurotransmisión es significativa.
- La *secreción*, o liberación de moléculas que actúan sobre otras células. Este mecanismo de comunicación es la forma más poderosa, siendo compartido por neuronas, células exocrinas y endocrinas. La neurosecreción se produce, fundamentalmente, por *exocitosis*, y es la base de las *sinapsis químicas*. Las sustancias que se liberan en el caso de las neuronas se llaman *neurotransmisores* (NT), y las vesículas donde se almacenan, *vesículas sinápticas*. Estas vesículas pueden migrar y fundirse con la membrana plasmática, generalmente, por un proceso de reciclado, llamado de beso y retroceso, vaciando su contenido al espacio extracelular, o hendidura sináptica (Fig. 33-6).



33.6 NEUROTRANSMISORES: TIPOS Y CARACTERÍSTICAS

Sobre 1920, los neurofisiólogos Dale y Loewi, de forma intuitiva, sin aislarlos ni caracterizarlos, definieron los neurotransmisores como biomoléculas que producen una respuesta biodinámica cuando actúan sobre un tejido. Desde entonces, mucho se ha avanzado en el aislamiento de estas biomoléculas, pero el concepto es todavía válido. Aplicando los conceptos más clásicos y, con mayor precisión, podemos ahora definir un neurotransmisor (NT) como una biomolécula que cumple las siguientes características:

- Se encuentra presente en las neuronas, así como las enzimas necesarias para su biosíntesis.
- Se libera como consecuencia de una entrada de Ca^{2+} en la neurona.
- Existen mecanismos de degradación o captación alrededor de la hendidura sináptica.
- Existen receptores postsinápticos específicos para ella.
- Existen *agonistas* y *antagonistas* que, respectivamente, simulan o bloquean su acción.

Pero el conocimiento de los NT nos permite clasificarlos, en función de su estructura o acción. En cuanto a su estructura, podemos establecer, principalmente, cinco grupos:

- *Acetilcolina*: el primero conocido, es un éster entre el anión acetato y la colina, un alcohol básico presente en las lecitinas.
- *Aminoácidos modificados*: normalmente, por descarboxilaciones e hidroxilaciones. A este grupo pertene-

cen las *catecolaminas* (dopamina, noradrenalina y adrenalina, derivados de la tirosina), las *indolaminas* (5-hidroxitriptamina, o serotonina, derivada del triptófano), y la *histamina*, derivada de la histidina.

- *Aminoácidos*: existen cuatro con acción neurotransmisora, los ácidos *aspártico* y *glutámico*, la *glicina* y el *GABA*, o ácido γ -aminobutírico. Puede incluirse también en este grupo la *taurina*.
- *Péptidos*: es el grupo más numeroso y de mayor avance en los últimos años. Se conocen más de 50 péptidos con actividad neurotransmisora, de los cuales los más importantes se indican en la Tabla 33-3.
- *Nucleósido/nucleótidos purínicos*: pueden actuar como NT todos los nucleótidos de adenina y su nucleósido correspondiente (*adenosina*, *AMP*, *ADP* y *ATP*), pero no los de guanina.

Si atendemos a su efecto directo, los NT pueden ser excitadores o inhibidores (Fig. 33-7). En las sinapsis excitatorias, la unión del NT a la membrana postsináptica produce la apertura de los canales de Na^+ , con la consiguiente despolarización e inducción del potencial de acción. En las inhibitorias, el NT (*glicina* y *GABA*) produce la apertura de los canales de Cl^- , dificultando o anulando la propagación del potencial de acción.

33.6.1 Concepto de cotransmisor, neuromodulador y neurohormona

A comienzos del siglo xx, Dale propuso una idea que ha estado vigente durante muchos años: cada neurona produce sólo un NT, que la caracteriza y la clasifica, en función del nombre de ese NT con el sufijo *-érgica* (del latín, *ergo*: causa de).

Tabla 33-3. Principales péptidos neuroactivos

ACTH	Melanotropina (α -MSH)
Bradiquinina	Neurotensina
Colescitoquininas	Oxitocina
Dinorfina	Péptido intestinal vasoactivo (VIP)
Encefalinas (Met y Leu)	Taquiquininas (sustancia P y otras)
Endorfinas (α y β)	TRH (hormona liberadora de tirotropina)
Endomorfinas	Vasopresina
Endotelina	
Gastrina	
LHRH (hormona liberadora de LH)	

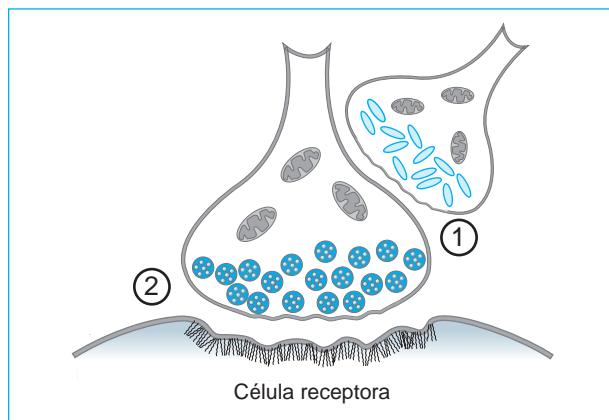


Figura 33-7. Esquema de dos sinapsis seriadas típicas, en la que la primera regula la actividad de la segunda. La morfología de las vesículas indica que la primera es inhibitoria (vesículas ovoides), mientras la segunda es excitatoria (vesículas esféricas y hendidura con microvellosidades en la membrana postsináptica).

Tenemos, así, neuronas colinérgicas, noradrenérgicas, glutamatérgicas, etc., como nombres de uso rutinario en neurociencia. Pero, en los últimos años, como consecuencia de la caracterización de NT de tipo peptídico y purínico, se han descrito muchos casos de neuronas que sintetizan y transmiten mediante un NT principal, pero que también tienen capacidad de utilizar un segundo NT en una extensión variable. Este segundo NT puede regular la liberación y los efectos postsinápticos del principal, bien de forma alternativa, o bien sólo modulando. Teniendo en cuenta estos mecanismos, se han introducido los términos *cotransmisor* y *neuromodulador*.

Por otra parte, debe tenerse también en cuenta que estas sustancias no presentan una naturaleza de cotransmisor o de neuromodulador en forma absoluta, puesto que pueden actuar en una neurona o, incluso en una sinapsis particular,

de una forma y, en otra neurona o sinapsis de otra zona, de forma distinta, dependiendo de la población de receptores circundantes. A modo de ejemplo ilustrativo, un NT purínico como el AMP puede actuar como tal NT en una neurona purinérgica, o como cotransmisor en una neurona colinérgica que utilice AMP para modular la señal de la acetilcolina. Las diferencias más comunes entre estos conceptos se resumen en la Tabla 33-4.

Además, otros ejemplos permiten introducir como neuromoduladores a sustancias que no pertenecen a ningún grupo, pero que cumplen funciones en la neurotransmisión. Un ejemplo es el caso de la pareja glutamato y NO (óxido nítrico), en los mecanismos que permiten formas simples de aprendizaje y memoria en animales, como el caracol marino. El glutamato liberado como NT actúa sobre un tipo de receptores que estimula la síntesis de NO en la membrana postsináptica. El NO difunde a la membrana presináptica, donde regula la liberación de más glutamato, actuando como un neuromodulador que, en este caso, también recibe el nombre de NT retrógrado.

En relación con estas diferencias de concepto entre NT y neuromodulador, parece también interesante comentar la relación entre NT y hormona. Básicamente, el mecanismo de acción de los NT mediante su unión a receptores es muy similar al de las hormonas (véase el Cap. 12). Las diferencias principales radican en su alcance preferente de acción, paracrino y endocrino, respectivamente. Si empleamos casos concretos, las analogías quedan aún más patentes por el hecho de que una misma molécula sea, a veces, considerada NT y, a veces, hormona. La adrenalina (epinefrina) y la noradrenalina (norepinefrina) pertenecen a ambos grupos, según se sinteticen y secretén por las neuronas en sinapsis interneuronales del SN o por las células cromafines a la sangre, en la médula suprarrenal. Las neuronas magnocelulares de la neurohipófisis son las que directamente secretan las hormonas oxitocina y la vasopresina,

Tabla 33-4. Principales diferencias entre neurotransmisor, neuromodulador y cotransmisor

<i>Neurotransmisor (NT)</i>	<i>Neuromodulador (NM)</i>	<i>Cotransmisor (CT)</i>
Tiene efecto directo, puesto que existen receptores postsinápticos para su unión específica, acoplados a canales o a sistemas de transducción de señales.	No tiene efecto directo sobre la membrana postsináptica.	Puede tener un efecto directo sobre la membrana postsináptica, pero normalmente se libera con el NT principal y puede actuar como segundo NT o como NM.
Pueden existir receptores presinápticos que controlen su liberación.	Puede actuar sobre receptores, tanto presinápticos como postsinápticos, para regular la liberación o el efecto del NT.	Existen receptores postsinápticos para su unión, pero pueden estar en sinapsis diferentes de las del NT principal.

por escisión de neurofisinas. De nuevo, las diferencias, ahora entre NT y hormona, dependen más del medio en el que se forman y actúan que de su naturaleza intrínseca.

En una línea parecida, se sintetizan numerosos *péptidos neuroactivos*, tanto en el encéfalo como en tejidos corporales no neuronales. Por ejemplo, las neuronas del hipotálamo producen péptidos, llamados *neurohormonas* (TRH, LHRH), que controlan la liberación, en la hipófisis, de otras hormonas peptídicas más clásicas. Afortunadamente, los capilares cerebrales suelen ser muy impermeables a los péptidos, por lo que las sustancias neuroactivas de la sangre no entran en el cerebro y no interfieren las neurotransmisiones cerebrales mediadas por ese tipo de sustancias. La compartimentación del organismo es esencial para su correcto funcionamiento. Las hormonas y los NT comparten mecanismos de acción muy similares y, además, el término *neurohormona*, aplicado a muchos biopéptidos, evidencia que las diferencias entre ambos grupos responden más a conceptos clásicos e históricos que a sus mecanismos y propiedades moleculares.

33.7 MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS NEUROTRANSMISORES: LOS RECEPTORES

Como ya se ha mencionado, los NT pueden producir más de un efecto en la membrana postsináptica, o efectos diferentes en sinapsis distintas. Ello se debe, principalmente, a que dichas biomoléculas pueden unirse a varias clases de *receptores* que, a su vez, muestran con diversas subclases dentro de cada clase. La Tabla 33-5 presenta algunos de los receptores principales de los neurotransmisores.

Tabla 33-5. Receptores principales para los NT más comunes

Neurotransmisor	Tipos de receptores
Acetilcolina	Nicotínico y muscarínico
Adrenalina y noradrenalina	α y β -adrenérgicos
Dopamina	DA ₁ y DA ₂
Histamina	H ₁ , H ₂ y H ₃
Serotonina	ST ₁ y ST ₂
GABA	GABA _A y GABA _B
Glutamato	NMDA y cainato/quiscualato
Péptidos opiáceos	α , β , γ , δ y ϵ
Purínicos	P ₁ y P ₂

Las diferencias en los receptores son debidas, frecuentemente, a su naturaleza o a su localización e interacción con las moléculas vecinas. Los receptores son proteínas situadas en la membrana postsináptica codificadas, bien por genes diferentes, o bien, por un gen con posibilidad de formar proteínas distintas debido a modificaciones, tanto postranscripcionales, como postraduccionales. Incluso, el receptor puede ser idéntico, pero comportarse de modo diferente por variaciones existentes en el microambiente proteolípídico donde se encuentra.

En función del mecanismo del efecto postsináptico, se establecen dos tipos de receptores:

- Acoplados directamente a los canales iónicos: Éstos suelen formar parte de proteínas multiméricas, que funcionan a la vez como receptor y como canal dependiente de ligando (el propio NT). Producen señales eléctricas, es decir, un cambio rápido del potencial de membrana como consecuencia de la unión del NT.
- Acoplados a sistemas de transducción de señales: el sistema más común es la familia de las proteínas G (véase el Cap. 12). Sus mecanismos son análogos a los hormonales y producen señales químicas, como son las activaciones de segundos mensajeros (AMPc, GMPc, Ca²⁺, diacilglicéridos, inositolfosfatos, etc.), que producen la fosforilación y síntesis de proteínas específicas.

Por otra parte, en muchos sistemas sinápticos, existen *receptores presinápticos* en la propia neurona que libera el NT. Estos receptores suelen tener la misma naturaleza que los postsinápticos, pero la unión del NT a ellos modula su propia liberación produciendo un ahorro biosintético y energético en la neurona presináptica.

33.8 EL CALCIO Y LOS MECANISMOS DE LIBERACIÓN

En general, la liberación de los NT que se almacenan en las vesículas presinápticas se dispara por un aumento del Ca²⁺ intracelular. Existen numerosas evidencias que prueban este mecanismo general, como son:

- La liberación de NT ocurre inmediatamente después de la entrada de Ca²⁺.
- La microinyección de Ca²⁺ exógeno produce la liberación de NT.
- Los iones semejantes al Ca²⁺, como el Sr²⁺, simulan el efecto.

- Existen canales de Ca^{2+} que crean dominios de entrada de Ca^{2+} y que se encuentran agrupados muy cerca de los centros de liberación de NT.
- El Ca^{2+} provoca variaciones en la interacción de las vesículas con el citoesqueleto para que puedan migrar hacia la membrana y verter su contenido.

Sin embargo, los mecanismos que dan lugar a la migración de la vesícula presináptica y su «atraque» a la membrana son complejos y dependen de una gran cantidad de proteínas, además del Ca^{2+} . El «atraque» se produce en puntos de la membrana presináptica, determinados por la presencia de las *proteínas rim* (membrana) y su interacción con las *proteínas rab3* (presentes en la vesícula). Las *sinaptotagminas* son otras proteínas esenciales que funcionan como sensores primarios del aumento en la concentración del Ca^{2+} .

Después, el proceso continúa con intervención de otras proteínas, tanto asociadas a las vesículas sinápticas, como las *sinapsinas*, como solubles, caso de la *calmodulina* y la *proteína quinasa dependiente de $\text{Ca}^{2+}/\text{calmodulina}$* (*PKCaM*). La estructura y el mecanismo de acción de muchas de estas proteínas excede la extensión y las carac-

terísticas de este capítulo. Un esquema simple del mecanismo es el siguiente: la *calmodulina* es una proteína ubicua y pequeña que une Ca^{2+} . La *PKCaM* es una proteína, también, muy ubicua y con estructuras diferentes según el tejido, pero abundante en el SN como un dodecámero con dos tipos de subunidades. Cuando la concentración de Ca^{2+} aumenta por entrada de éste a la neurona presináptica, a través de canales específicos, se une rápidamente a la calmodulina, y el complejo $\text{Ca}^{2+}/\text{calmodulina}$ se une, a su vez, al dodecámero, que se activa y es capaz de fosforilar varias proteínas (Fig. 33-8). Una de ellas es la *sinapsina I*, situada en la membrana de las vesículas. Su fosforilación, sincronizada con la de las *sinaptotagminas* y otras, conduce al «atraque» de las vesículas sinápticas y la correspondiente liberación del NT por el mecanismo de beso y retroceso, antes comentado.

Por el contrario, cuando el nivel de Ca^{2+} baja, una *fosfoproteína fosfatasa* desfosforila las proteínas antes fosforiladas y hace que, en principio, se puedan recuperar las condiciones iniciales. La vesícula pierde su contacto con la membrana presináptica, se resella, revierte y recicla para una nueva carga de NT, completando el ciclo sináptico.

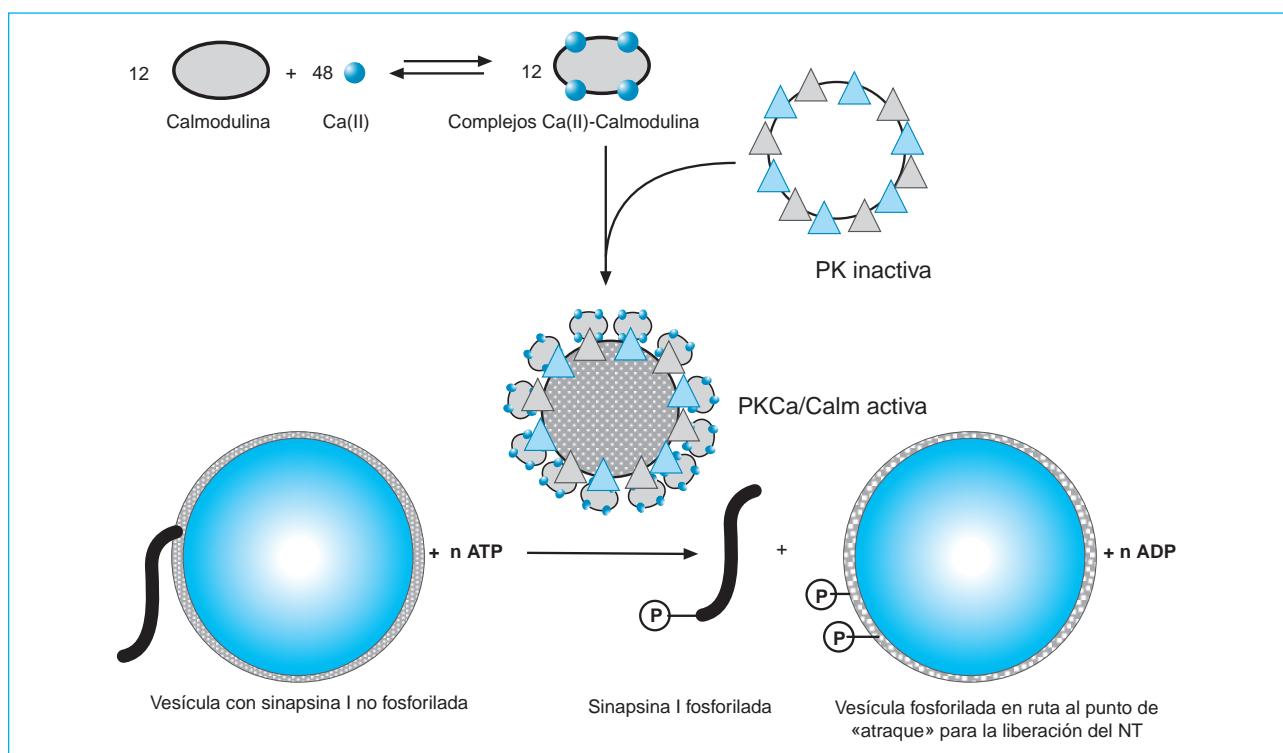


Figura 33-8. Control de la migración de vesículas sinápticas por $\text{Ca}^{2+}/\text{calmodulina}/\text{proteína quinasa (PK)}$. Cada calmodulina une 4 Ca^{2+} . Doce de los complejos Ca/calm se unen a la PK inactiva formada por un dodecámero con dos tipos de subunidades. El complejo $\text{Ca}/\text{Calm}/\text{PK}$ se activa y fosforila varias proteínas, entre ellas, la sinapsina I y las sinaptotagminas, situadas en la membrana de las vesículas, la primera periférica y la segunda, integral. Su fosforilación conduce a la movilización de las vesículas sinápticas y su «atraque» a la membrana.

33.9 UN MODELO DE NEUROTRANSMISIÓN: LA COLINÉRGICA

La síntesis de cada NT se produce por rutas metabólicas más o menos específicas y complejas, según su naturaleza. Asimismo, los tipos de receptores, la acción de agonistas y antagonistas, y los mecanismos de inactivación o recaptación del NT en la hendidura sináptica son específicos de cada NT y tipo de neurona, por lo que su estudio detallado excede los límites de este capítulo. Pero un modelo ilustrativo y relativamente sencillo de estos procesos es la *transmisión colinérgica*, que ha sido clave para dilucidar muchos de los conocimientos que tenemos sobre la forma de almacenaje y liberación de NT en las vesículas sinápticas.

Las neuronas colinérgicas están localizadas, principalmente, en la unión neuromuscular, la corteza cerebral, el hipocampo y el sistema parasimpático. El modelo mejor conocido es la unión neuromuscular. La acetilcolina se sintetiza a partir de la colina y la acetilCoA por acción de la enzima *acetilcolintransferasa*, y se acumula en vesículas sinápticas con otros compuestos, como el ATP.

Cuando llega un potencial de acción a la terminación del axón del nervio periférico que inerva un músculo, se dispara la liberación de acetilcolina de las vesículas que almacenan este NT. Ese compuesto despolariza la membrana postsináptica muscular, creando lo que se llama el *potencial de placa terminal* (EPP). Este EPP tiene una amplitud de unos 100 mV, suficiente para disparar la contracción del músculo, y es el resultado de la liberación simultánea de acetilcolina procedente de cientos de vesículas.

Existen dos tipos de receptores colinérgicos que reciben su nombre, según su principal agonista (o sustancia que simula la acción del NT):

— *Receptor nicotínico*: Puesto que la *nicotina* es agonista, mientras que el *curare* (un alcaloide utilizado por las tribus amazónicas para untar la punta de sus flechas y, así, paralizar a sus presas), es antagonista y bloquea la acción del NT. Este receptor es una proteína pentamérica que es, a la vez, receptor y canal de Na^+ , de modo que la unión de la acetilcolina es la señal de apertura rápida del canal. Muchos fármacos se unen a las distintas subunidades del receptor/canal, y se utilizan a dosis apropiadas como anestésicos locales. La estructura de alguno de ellos se representa en la Figura 33-9. Está presente en la unión neuromuscular esquelética y los ganglios parasimpáticos, y cualquier alteración de la unión de la acetilcolina es origen de enfermedades (Recuadro 33-2).

— *Receptor Muscarínico*: Que tiene como agonista la *muscarina* y como antagonista, la *atropina*. Es más abundante en el SNC y el músculo liso. Es un receptor acoplado a un sistema de transducción de señales, y la unión de la acetilcolina o sus agonistas a este tipo de receptor produce la síntesis del GMPc y la fosforilación de proteínas específicas. Su respuesta es más lenta que la del receptor nicotínico.

Como mecanismo de inactivación de los impulsos colinérgicos, la acetilcolina apenas se recicla por recaptación, sino que es hidrolizada rápidamente en la hendidura sináptica por la *acetilcolinesterasa*, una enzima muy activa y con uno de los mayores números de recambio conocidos. Los inhibidores de la acetilcolinesterasa son muy variados, y se utilizan con efectos muy variados, desde anestésicos hasta venenos nerviosos de menor o mayor potencia, por ejemplo, en la elaboración de plaguicidas. Los más potentes pueden y fueron alguna vez utilizados en la guerra química, puesto que pueden producir la muerte por parálisis neurorrespiratoria. Destacan, entre los inhibidores de la transmisión colinérgica, los organofosfatos y los ésteres de carbamilo, aunque, a

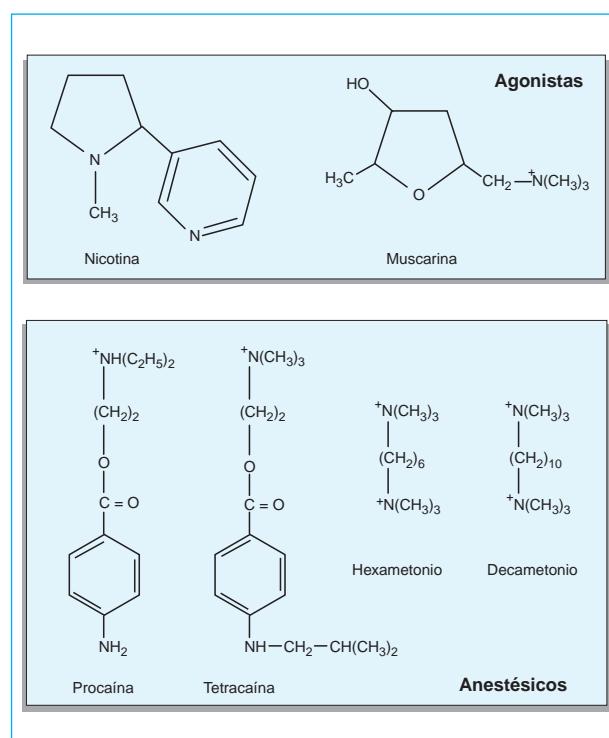


Figura 33-9. Estructura de los dos agonistas que dan nombre a los dos tipos de receptores colinérgicos y de algunos anestésicos locales, que se unen a subunidades del receptor/canal de Na^+ o a la acetilcolinesterasa y bloquean la transmisión neuromuscular.

Recuadro 33-2.**ENFERMEDADES DE LA UNIÓN NEUROMUSCULAR: LA MIASTENIA GRAVE Y OTRAS**

La *miasenia grave* es una enfermedad que se caracteriza por la fatiga y debilidad intensa de los músculos esqueléticos. Existen dos tipos de miastenia, ambas producidas por una reducción considerable de los receptores *nicotínicos* funcionales para la acetilcolina en las uniones neuromusculares. La enfermedad de origen congénito es heterogénea (déficit de acetilcolinesterasa en la placa motora y otras anomalías distintas de los receptores) y bastante rara, pero existe otra mucho más frecuente (prevalencia hasta 1:10 000) de origen autoinmunitario, en el que el propio organismo sintetiza autoanticuerpos contra una de las subunidades del receptor (la α , que se denomina región inmunógena principal). La unión de los anticuerpos provoca la inactivación de los receptores y su degradación, con su disminución en número. Los músculos más afectados son los craneales (oculares y bucofaríngeos) y las extremidades, aunque la gravedad de los síntomas varía entre días.

La acetilcolina se libera en las uniones neuromusculares como respuesta a la llegada del potencial de acción. Debido al número reducido de receptores existentes en estos pacientes, los niveles de acetilcolina no son suficientes para despolarizar la membrana y no se desencadena el potencial de acción muscular. El efecto se agrava especialmente durante un ejercicio sostenido, por lo que estas personas son incapaces de mantener contracciones musculares, experimentando muy rápidamente una gran fatiga muscular.

A menudo, se pueden paliar sus síntomas suministrando inhibidores de la *acetilcolinesterasa* en dosis controladas, como la *neostigmina*, que permiten una acción más prolongada del NT. Este incremento puede ser suficiente para provocar un mayor número de despolarizaciones de la membrana de la célula muscular y mejorar la contracción del músculo, puesto que la enfermedad no va acompañada de desnervación. Otros tratamientos se basan en la administración de péptidos que compitan con el receptor para bloquear las células T del sistema inmunitario, inmunosupresores como *corticoesteroides* o *azatioprina* e, incluso, anticuerpos contra las propias células T. Como consecuencia de todos

ellos, la esperanza de vida de los pacientes miasténicos es ya casi normal, cuando hace 25 años morían de forma relativamente temprana. Aproximadamente el 33% desarrollaba dificultades respiratorias (crisis miasténica), con necesidad de ventilación mecánica. Por otra parte, estos pacientes son muy sensibles a los bloqueantes neuromusculares, como la quinina o la *succinilcolina*.

El *síndrome de Lambert-Eaton* y el *botulismo* son también trastornos de la unión neuromuscular, aunque con características opuestas a la miastenia. El síndrome de Lambert-Eaton se atribuye a la acción de anticuerpos contra canales de Ca^{2+} sensibles a voltaje en las terminales presinápticas y, frecuentemente, va asociado con carcinomas microcíticos pulmonares. El botulismo se debe a una toxina específica que también dificulta la liberación de acetilcolina de las vesículas sinápticas. Es muy agudo y depende de la dosis de toxina, pudiendo ser mortal en los primeros días para desaparecer en unas semanas si el organismo logra inactivar la toxina. El *gluconato cálcico* o la *guanidina* son tratamientos paliativos tanto para el botulismo, como para el síndrome de Lambert-Eaton porque promueven la liberación de la acetilcolina.

veces, y en dosis controladas pueden ser utilizados para paliar enfermedades neuromusculares prolongando la acción de la acetilcolina.

Dadas las peculiaridades del sistema nervioso no es de extrañar que muchas enfermedades se relacionen con el mismo, incluyendo enfermedades degenerativas de tanta incidencia social como el Parkinson y el Alzheimer (Recuadros 33-3 y 33-4).

33.10 LA NEUROTRANSMISIÓN Y LOS IMPULSOS SENSORIALES

Los órganos sensoriales animales se basan en células que poseen receptores especializados en captar estímulos externos y convertirlos en una señal eléctrica, que se transmite por

las neuronas al SN. Esta transformación en señal eléctrica hace que, frecuentemente, el receptor directo del estímulo externo sea un canal iónico o una proteína acoplada a un canal iónico, normalmente, de Na^+ . Así, los *receptores táctiles* son canales de Na^+ multiméricos de estructura compleja. Se conocen, al menos, diez subunidades de estos canales que cuando mutan originan insensibilidad táctil más o menos grave. De los cuatro *receptores gustativos* clásicos (salado, dulce, amargo y ácido), los salados son los que mejor se conocen, tratándose también de canales de Na^+ situados en la membrana apical de las células gustativas, de forma que la entrada de Na^+ despolariza la membrana e inicia la transmisión del impulso.

Aunque la coincidencia de la proteína receptora con el canal iónico es la solución más directa, en otros sistemas sensoriales el receptor y el canal iónico no son la misma proteína,

Recuadro 33-3.**DOPAMINA Y ENFERMEDAD DE PARKINSON**

Estadísticas actuales de la Organización Mundial de la Salud indican que, aproximadamente, el 45% de las enfermedades están relacionadas con el sistema nervioso, ya sean mentales, del comportamiento o cerebrovasculares. Entre las enfermedades neurodegenerativas más frecuentes se encuentran la de Parkinson (PD), demencias con cuerpos de Lewy (DLB), Alzheimer (AD) y esquizofrenias (EF).

Los síntomas principales de la PD son temblores y dificultad en el movimiento locomotor, con especial rigidez de los músculos esqueléticos. Sin embargo, la lesión se produce en la sustancia negra, el encéfalo, y los ganglios basales. Se debe a una destrucción de neuronas dopamínergicas que no sintetizan y liberan dopamina, uno de los NT de tipo catecolaminérgico. El tratamiento paliativo más usado es la administración de L-dopa o derivados, que pueden

atravesar la barrera hematoencefálica y por descarboxilación transformarse en dopamina.

La PD es una enfermedad que suele aparecer en adultos de más de 40 años (existe una forma temprana de la enfermedad) y cuya frecuencia aumenta con la edad, presentando una incidencia relativamente alta por encima de los 60. La destrucción de las neuronas dopamínergicas se puede producir por causas muy distintas, y entre los factores que la aceleran se encuentran el estrés oxidativo, la excitotoxicidad, los niveles altos de óxido nítrico, la disfunción mitocondrial y la proteólisis neuronal alterada. A nivel molecular, uno de los factores desencadenantes de la PD son las mutaciones en la α -synucleína (*synucleinopatías*). Estas mutaciones favorecen la formación de láminas β en la estructura de esta proteína, que ocasiona la formación de agregaciones y protofibrillas, que dan lugar a los cuerpos de Lewy y a la demencia con cuerpos de Lewy, que acompaña muchos casos de PD. Alteraciones en otras proteínas relacio-

nadas con esta enfermedad, como la *parkina*, que participa en la ubiquitinación y degradación de la synucleína, son causas de la PD y dianas potenciales para el tratamiento de la enfermedad.

Un brote bastante notorio de PD apareció en una población de jóvenes americanos drogodependientes que se administraban un analgésico llamado *meperidina* (1-metil-4-fenil-4-propionoxipiperidina, o MPPP), como sustituto sintético de la heroína por sus propiedades semejantes a la morfina. La síntesis de este analgésico por laboratorios sin precauciones especiales producía un producto secundario tóxico, el *MPTP* (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidroxipiridina) que, en el cerebro, se transforma en un catión MPP^+ , muy neurotóxico para las neuronas mencionadas y que hacía desarrollar la PD. De hecho, la administración de MPTP a animales de experimentación ha sido uno de los métodos más utilizados para crear un modelo experimental de la enfermedad y poder estudiarla.

y la conexión entre ambos está mediada por *proteínas G*, que regulan la apertura y el cierre del canal. Los *receptores visuales* y los *receptores olfativos* responden a este esquema. En el caso del olfato, existen cientos de receptores para captar miles de olores diferentes, puesto que cada aroma es reconocido con una afinidad diferente por un conjunto de receptores que le dan su identidad específica con gran precisión.

Variaciones en la afinidad por el ligando químico, el grado de saturación o el número de integrantes pueden dar sensaciones muy diferentes. Por ejemplo, el octanol huele a rosas, pero el ácido octanoico huele a grasa rancia. El indol diluido huele a flores y, concentrado, a podrido. Cada receptor se expresa en unas pocas células del epitelio olfativo nasal y se acopla a proteínas G específicas de este epitelio, llamadas G_{olf} , que activan la adenilato ciclase y aumentan el nivel de AMPc, según el mecanismo clásico de respuesta hormonal (véase el Cap. 12). Este nucleótido cíclico regula la apertura de canales de Na^+ y la señal eléctrica se envía al cerebro por el nervio olfativo.

El conocimiento total del genoma humano ha puesto de manifiesto la existencia de una gran diversidad de receptores olfativos. Resulta llamativo que los seres humanos tengan una parte considerable del genoma codificante (alrededor del 3%) destinado a codificar proteínas relacionadas con el sentido del olfato e investigar los mecanismos concretos que relacionan cada sustancia química que produce la sensación de olor con su receptor específico y la G_{olf} correspondiente. No obstante, al menos en extensión, el ser humano tiene este sentido en declive, puesto que el epitelio olfativo humano ocupa $2\text{-}4\text{ cm}^2$, en comparación con los 9 cm^2 del conejo, 18 cm^2 en el perro y 21 cm^2 en el gato.

Por su mayor simplicidad, al existir sólo cuatro tipos, y su utilidad en los seres humanos, se conocen mucho mejor los receptores de la visión y su funcionamiento. A continuación se detalla la maquinaria celular y molecular de la retina que transforma la energía luminosa en impulsos nerviosos.

Recuadro 33-4.**ENFERMEDAD DE ALZHEIMER (AD)**

Esta enfermedad neurodegenerativa, actualmente la padece ya un 7% de la población mundial en personas de más de 65 años, y un 40% de las personas mayores de 80 años. En 1907, Alois Alzheimer la describió por primera vez en una mujer de mediana edad que presentaba pérdida de memoria y de su capacidad cognitiva, con desorientación y desconfianza social. Sus síntomas se agravaron hasta su muerte temprana. La autopsia reveló *ovillos neurofibrilares* y *placas seniles* en la corteza y el hipocampo.

Al igual que la PD, esta enfermedad es multifactorial y tiene diversos factores de riesgo. No existe actualmente ningún tratamiento, pero los síntomas asociados, como depresión, alucinaciones etcétera, pueden paliarse mediante

fármacos que estimulan el sistema colinérgico, sobre todo, en el prosencéfalo basal. Aunque, en el sentido propio de la palabra la mayor parte de los casos no son hereditarios, los factores genéticos son importantes. Atendiendo tanto a estos factores como al período de inicio de la enfermedad, la AD puede clasificarse en:

- **Inicio precoz:** Mutaciones en la proteína APP, precursora de los depósitos *amiloideos* (gen situado en el cromosoma 21); mutaciones en la *presenilina 1* (gen en el cromosoma 14); y mutaciones en la *presenilina 2* (gen en el cromosoma 1).
- **Inicio tardío:** Presencia del alelo *apoE4* (en el cromosoma 19); mutaciones en la $\alpha 2$ -*macroglobulina* (cromosoma 12), que produce interferencias en las funciones de limpieza de las placas por la microglia; y depósitos del péptido $A\beta$ que conllevan la muerte neuronal y gliosis.

Mutaciones en la proteína *tau* (tautopatías) y en su grado de fosforilación. Tau es una proteína que interviene en la organización del neuroesqueleto y el transporte neuronal, por unión a microtúbulos neuronales.

Las neuronas más vulnerables de la AD se sitúan en los centros de memoria, como la corteza y las neuronas piramidales del hipocampo, así como en algunos sistemas monoaminérgicos y el sistema colinérgico de la base del cerebro anterior. En todas ellas se forman ovillos neurofibrilares y depósitos del péptido $A\beta$ que conllevan la muerte neuronal y gliosis.

Los *ovillos neurofibrilares* son inclusiones filamentosas intraneuronales poco solubles que aparecen con forma helicoidal o, a veces, recta, de unos 15 nm y contienen *proteína tau* hiperfosforilada. Se acumulan en axones distróficos (Fig. 33-10) y otras zonas de dendritas próxi-

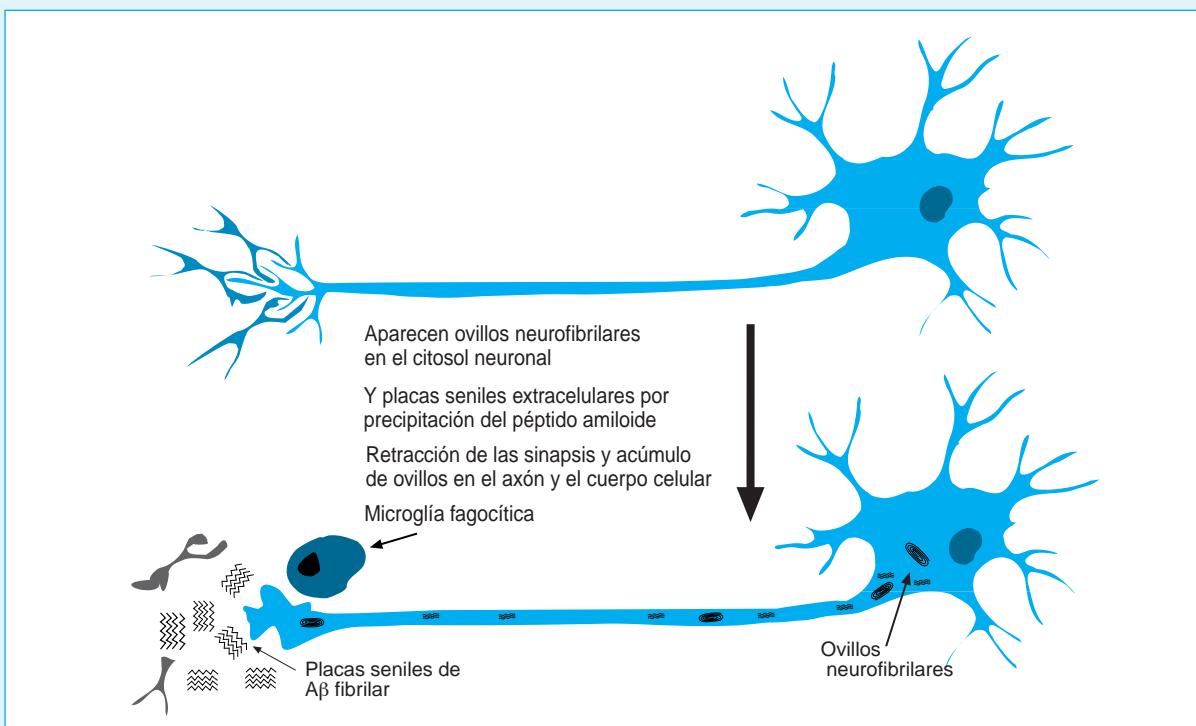


Figura 33-10. Comparación entre una neurona con sinapsis normal y otra con las anormalidades típicas de la enfermedad de Alzheimer. Obsérvese la aparición de las estructuras amiloideas, tanto intracelulares (ovillos neurofibrilares con proteína tau hiperfosforilada) como extracelulares (placas seniles de péptidos $A\beta$) que dan lugar a la retracción y degeneración axonal típica de la enfermedad.

mas, hasta que ocasionan la pérdida del transporte axonal y la muerte neuronal. Se liberan al medio extracelular cuando la célula muere.

Las placas seniles son extracelulares, y suelen estar rodeadas de axones distróficos, astrocitos y microglia. Están formadas por sustancia amiloide. El componente principal en la AD es el péptido amiloide A β , de 4 kDa, que procede de la proteólisis de la proteína APP. Esta proteína de función desconocida presenta en los seres humanos 3 isoformas y se localiza anclada a la membrana neuronal con sólo un fragmento situado cerca del extremo C-terminal. El péptido A β se localiza entre la región transmembrana y su porción anterior, hacia el interior de la célula. La APP se hidroliza por

3 tipos de *endopeptidasas o secretasas*, llamadas α , β y γ (Fig. 33-11). La secretasa α es la única que rompe por el centro del péptido, y da el fragmento A β 17-40, que no forma placas. Pero las β y γ dan lugar a formas de 40, 42 y 43 aminoácidos, que son insolubles, agregan y originan las placas. Las especies A β 42 y A β 43 forman fibras amiloideas mucho más eficaz y rápidamente que la A β 40. El fragmento A β 42 es incluso neurotóxico por estimulación del estrés oxidativo. En familias portadoras de AD se han encontrado mutaciones en APP que favorecen el desarrollo precoz de la enfermedad.

Cerca del 30% de los casos de AD hereditario están en relación con mutaciones en la presenilina 1, una proteína

con 8 fragmentos transmembrana. Las mutaciones inducidas se sitúan siempre en los dominios transmembrana. Dan lugar a depósitos cerebrales de los péptidos amiloideos A β largos, además de fragmentos propios de los extremos N-terminal y el C-terminal, indicando su procesamiento proteolítico. Las mutaciones de la presenilina 2, una proteína homóloga a la 1, son más escasas. La función de ambas es desconocida, pero parecen controlar el destino y la diferenciación de algunos tipos neuronales. Es obvio lo importante que es la intensa investigación que se está realizando en todo el ámbito de las enfermedades neurodegenerativas, dada la repercusión que alcanzan por el aumento de la esperanza de vida humana.

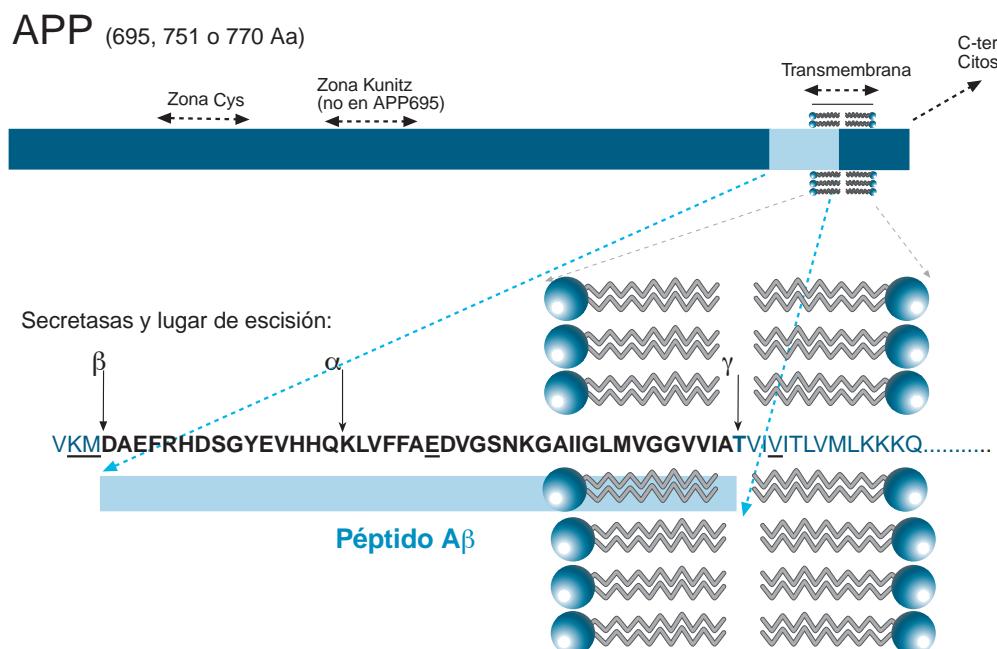


Figura 33-11. Localización, estructura y procesamiento de la proteína APP y los péptidos amiloideos A β . Las 3 formas de la proteína humana tienen un fragmento transmembrana cerca del extremo C-terminal. El péptido A β está situado cerca y en la región transmembrana. Las secretasas β y γ la hidrolizan y el procesamiento posterior da lugar a fragmentos A β 40, A β 42 y A β 43, los dos últimos, muy patógenos. Sólo la α da un péptido truncado (β 17-40) no patógeno. Los residuos subrayados sufren mutaciones que favorecen la AD precoz. La 670KM por NL da lugar a una secreción alta de péptidos A β ; la 717V por G, F o I produce cantidades grandes de A β 42 y A β 43, y la mutación 693E por Q produce depósitos A β alrededor de los capilares y hemorragia cerebral.

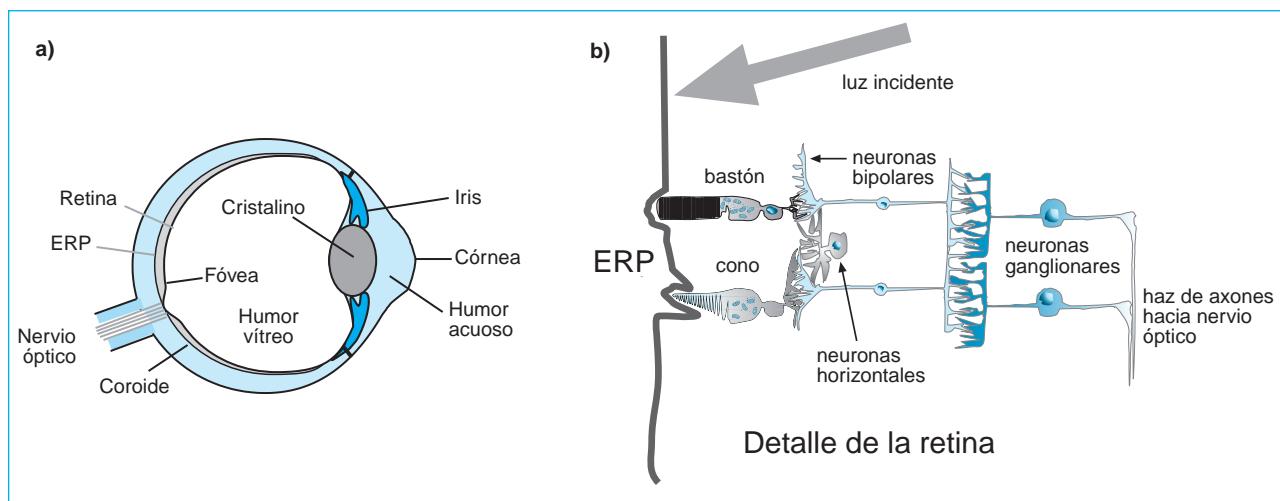


Figura 33-12. (a) Esquema del globo ocular mostrando la situación de la retina, el epitelio pigmentado y otras capas que rodean el interior del globo, así como la córnea exterior y el cristalino. (b) Conexiones entre las células fotorreceptoras (cono y bastón) y otras interneuronas, hasta el nervio óptico. Obsérvese la orientación de las células de la retina hacia el epitelio retiniano pigmentado (ERP).

33.11 LAS BASES CELULARES Y MOLECULARES DE LA VISIÓN

33.11.1 La retina, las células fotorreceptoras y el epitelio pigmentado

La retina es una estructura celular que recubre el fondo del globo ocular (Fig. 33-12a), y se encarga de transformar los estímulos luminosos en impulsos nerviosos, y transmitirlos al cerebro por el nervio óptico. La retina está formada por varias capas de células especializadas, entre las que destacan las *células fotorreceptoras*, que recogen el estímulo lumínoso y establecen uniones sinápticas con las *neuronas bipolares*. Éstas están conectadas con las *neuronas ganglionares*, cuyos axones se integran en el nervio óptico y llegan hasta el área visual primaria, situada en la parte posterior del cerebro. Algunos aspectos relativos a la estructura del globo ocular, esenciales para la visión pero no relacionados con el sistema sensorial, se tratan en el Capítulo 34.

Las células fotorreceptoras son de dos tipos, *conos* y *bastones*, distinguibles tanto morfológica como funcionalmente. Los conos están especializados en la visión a plena luz y en color, y una retina humana contiene unos 3 millones de ellos. Los bastones se ocupan de la visión con poca luz y en blanco y negro, existiendo unos 100 millones en el ojo humano. Las proporciones cambian en otras especies, pero cuanto mayor sea el número de conos mayor sensibilidad se tiene al color pero menos visión nocturna. Las aves nocturnas, como el búho, tienen sólo bastones y muy buena visión nocturna, mientras que las palomas poseen casi sólo conos y, por ello, una gran visión del color con luz intensa, pero son casi ciegas por la noche.

Tanto los bastones como los conos son alargados, aunque más los primeros, y tienen un cilio central estrecho que separa la célula en dos partes, los segmentos externo e interno (Fig. 33-13). El segmento interno contiene la maquinaria celular, es decir, el núcleo, el retículo endoplasmático y la mayor parte de los orgánulos subcelulares. Su membrana es rica en canales de Na^+ y su extremo basal establece sinapsis con las neuronas bipolares. El segmento externo es la parte de la célula fotorreceptora especializada en la captación del estímulo lumínoso. En los bastones, presenta una serie de vesículas aplastadas, llamadas *discos*, mientras que, en los conos, el segmento externo es más corto y, en lugar de discos individualizados, presenta una serie de invaginaciones de la membrana plasmática, denominadas *sacos*.

En la cara opuesta a las células fotorreceptoras, la retina tiene un *epitelio pigmentado* rico en melanina (ERP) (Fig. 33-12), un pigmento con funciones fotoprotectoras que, también se encuentra en la piel y cuya abundancia o estructura, dan lugar a las distintas tonalidades cutáneas (véase el Cap. 34). El epitelio retiniano pigmentado es esencial para la visión, puesto que la pérdida de estas células (*degeneración macular por envejecimiento*) comporta la muerte de las células fotorreceptoras y es la causa principal de la pérdida de visión a nivel mundial. Sus funciones más importantes en la retina son:

- Participar en el metabolismo de los derivados de la vitamina A (entre los que está la principal molécula fotorreceptora, el 11-cis-retinal).
- Fagocitar las porciones distales de los segmentos externos de *conos* y *bastones*, renovando estos segmentos de forma continua.

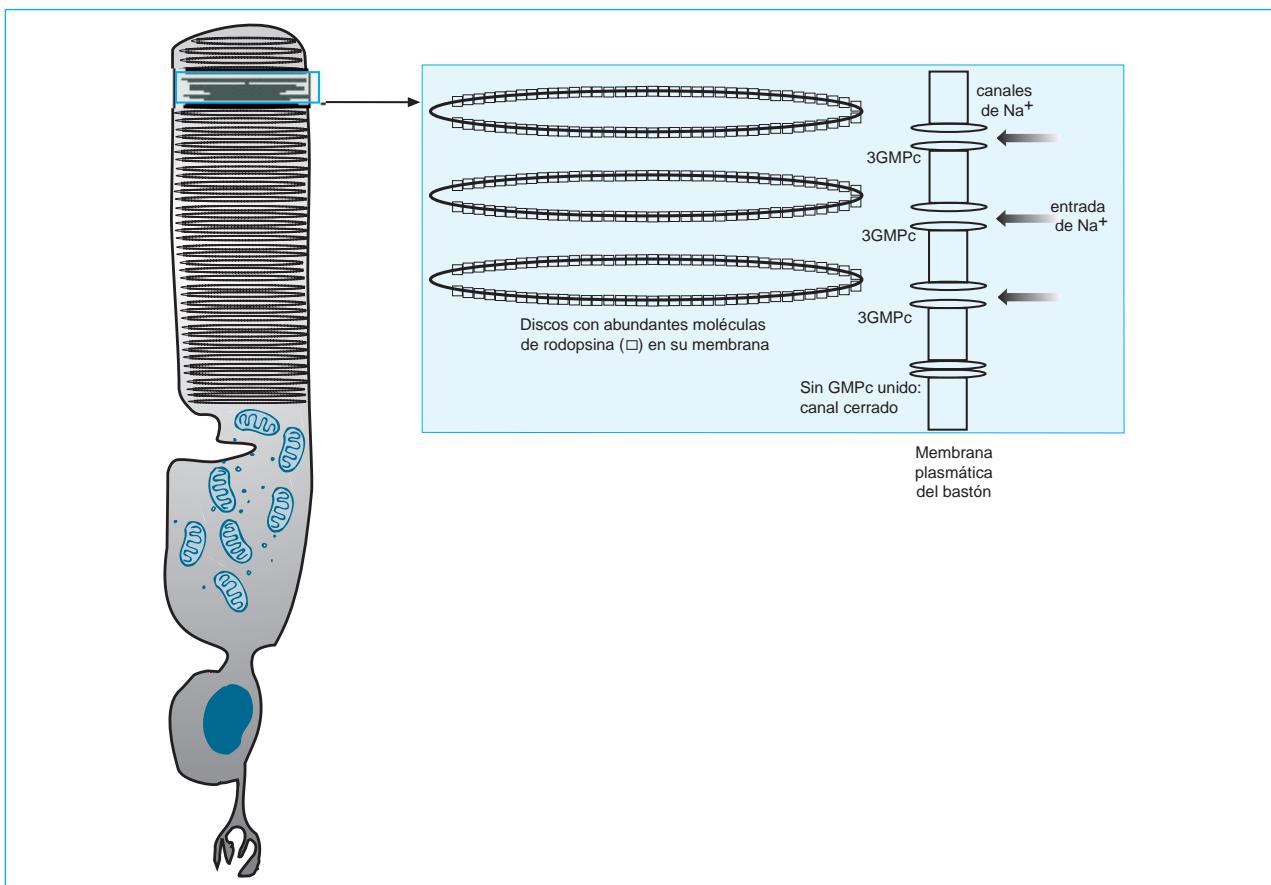


Figura 33-13. Esquema de un bastón, mostrando los segmentos externo e interno, separados por el cilio central. Después del núcleo, su pie inferior establece sinapsis con las neuronas bipolares. El segmento externo contiene un apilamiento de discos con membranas muy ricas en rodopsina. Derecha: aumento que muestra un fragmento del segmento externo con detalle de discos y canales de Na^+ en la membrana de la célula. Esos canales están abiertos si tienen unidas 3 moléculas de GMPc.

- Constituir una barrera entre la sangre y la retina, que no permite la transferencia libre de sustancias presentes en el plasma y que alterarían la estructura del retinal.
- Contribuir a la calidad de la visión en situaciones de luminosidad intensa, mejorando el enfoque óptico.

33.11.2 El potencial de reposo de las células fotorreceptoras y su variación

Las células fotorreceptoras en la oscuridad tienen un potencial de reposo negativo, que oscila entre -30 y -40 mV. Este potencial es el balance de la acción de la ATPasa dependiente de Na^+ y K^+ , y de un canal de Na^+ que permite la entrada limitada de este ion, aunque no la permeabilidad total, puesto que ello significaría alcanzar una mayor polarización y un potencial de equilibrio más negativo. La ATPasa se encuentra localizada en la membrana plasmática del segmento interno y bombea Na^+ hacia el exterior y K^+ hacia el interior de la

célula, ambos contra gradiente. El canal de Na^+ está localizado en los segmentos externos y permite la entrada limitada de Na^+ a favor de gradiente (Fig. 33-13).

Este canal de Na^+ presente en la membrana de los conos y los bastones posee varias características peculiares para permitir el acoplamiento entre la captación de energía lumínosa y la generación del impulso eléctrico. En primer lugar, se trata de un canal controlado por ligando: los canales se abren por la unión de GMPc. En las células fotorreceptoras no estimuladas, los niveles basales de GMPc son suficientes para mantener abierta una fracción considerable de los canales. En segundo lugar, aunque el canal presenta permeabilidad preferente para el Na^+ , permite en menor medida, la entrada de Ca^{+2} , lo que es importante para los mecanismos de adaptación a una estimulación continua de luz (véase más adelante).

Tras la llegada de una estimulación luminosa fugaz, los canales de Na^+ de las células fotorreceptoras se cierran com-

pletamente porque disminuyen los niveles de GMPc. En consecuencia, se paraliza transitoriamente la entrada de Na^+ por los canales, mientras se mantiene el bombeo de expulsión de este catión por la ATPasa. El resultado es una hiperpolarización de la membrana, cuya magnitud depende de la estimulación, es decir, del número de fotones captados, que dispara la liberación de glutamato, el NT acumulado en el extremo basal de los conos y los bastones. El glutamato transmite los impulsos hasta las neuronas bipolares que contienen receptores específicos para este neurotransmisor, y de ahí, el impulso pasa hasta el cerebro por el nervio óptico con intervención de diversos tipos neuronales, que intervienen en la inversión y modulación de la señal (Fig. 33-12b).

Nótese que la estimulación de las células fotorreceptoras provoca una hiperpolarización de la membrana a valores más negativos, sobre -60 mV , y que activa la liberación de glutamato, a diferencia de lo que sucede en la mayor parte de las neuronas del SNC, en las que la liberación del NT se produce como consecuencia de una despolarización de la mem-

brana. Por otra parte, estas células deben poseer sistemas químicos que permitan convertir la energía fotónica en cambios de niveles en el GMPc y, por ende, en la permeabilidad de la membrana para el Na^+ . Estos sistemas están basados en la isomerización del retinal.

33.12 METABOLISMO DEL 11-CIS-RETINAL Y ESTRUCTURA DE LA RODOPSINA

33.12.1 Origen y metabolismo del 11-cis-retinal. El grupo prostético

El precursor de los retinoides «de novo» es el β -caroteno (*provitamina A*) de la dieta. En las células de la mucosa intestinal, el β -caroteno se escinde en dos moléculas de *todo-trans-retinal*, mediante una oxidación catalizada por la enzima *caroteno 15,15'-dioxigenasa* (Fig. 33-14). El *todo-trans-retinal* se reduce a *todo-trans-retinol* (vitamina A₁) en una reacción catalizada por la enzima *retinol deshidrogenasa*, dependiente de NADH. Este retinol y su isómero A₂ (que tiene un doble enlace conjugado adicional en el anillo) se esterifican con los

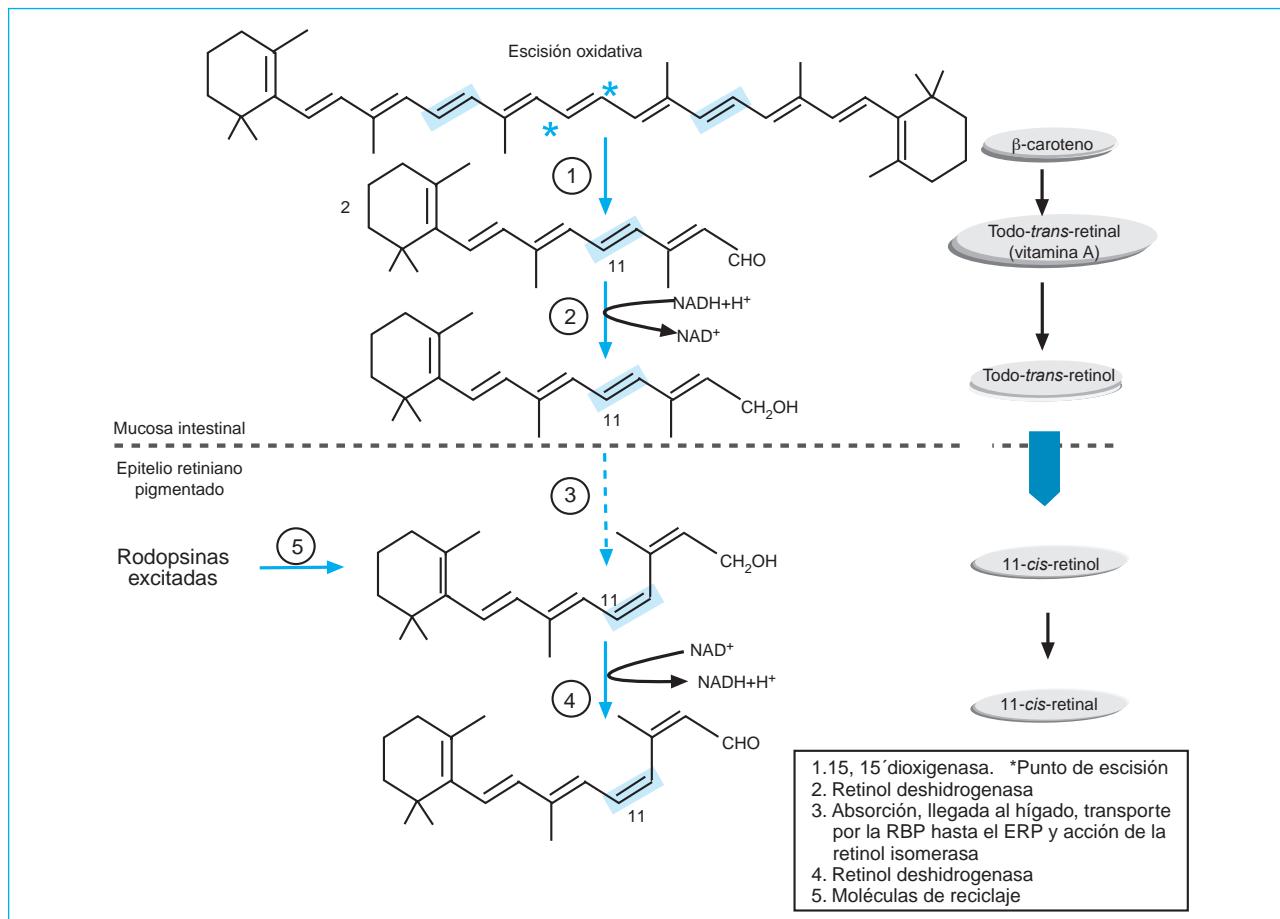


Figura 33-14. Metabolismo del 11-cis-retinal. El β -caroteno precursor se escinde en dos moléculas de *todo-trans-retinal*, que se reduce a *todo-trans-retinol* y se une a la proteína transportadora de retinol (RBP) para su transporte plasmático hasta el epitelio retiniano pigmentado (ERP). Allí se isomeriza el doble enlace en el C11, marcado en azul, a 11-cis y se oxida a 11-cis-retinal.

ácidos grasos, dando moléculas muy hidrofóbicas que se incorporan a los quilomicrones y se transportan al hígado. Allí, los ésteres se saponifican y el retinol se libera y se une a la proteína transportadora de retinol del plasma (RBP, del inglés, *retinol binding protein*), que lo transporta hasta la retina.

Los complejos retinol-RBP son reconocidos y captados por receptores específicos de las células del epitelio retiniano pigmentado. El todo-*trans*-retinol es acumulado en dicho epitelio y, eventualmente, transformado en *11-cis-retinal* para la síntesis de rodopsina. La transformación se produce en dos reacciones consecutivas, la isomerización a *11-cis-retinol*, catalizada por la *retinol isomerasa*, y la oxidación a *11-cis-retinal*, catalizada de nuevo por una *retinol deshidrogenasa* dependiente de NADH, pero esta reacción está desplazada en sentido contrario a la que se produjo en el intestino, por la mayor proporción de NAD⁺/NADH existente en el epitelio pigmentado y por la mayor tendencia a oxidarse del isómero *11-cis*, en comparación con el *todo-trans*.

Una parte importante del *11-cis-retinal* que utiliza la retina procede del reciclaje de las moléculas de *rodopsina* que se degradan por el recambio continuo de discos o sacos existentes, respectivamente, en los segmentos externos de los bastones y conos. La rodopsina libera el grupo prostético como *11-cis-retinol*, que se retiene en el epitelio retiniano pigmentado y, junto con el que procede de la dieta, se emplea para formar nuevas moléculas de rodopsina.

33.12.2 La apoproteína: Estructura de la opsina y la rodopsina. La absorción de luz

La primera etapa en la cascada de acontecimientos que conduce a la percepción de un estímulo luminoso es la captación de un fotón por una proteína muy especializada para tal fin, la *rodopsina*. Esta proteína es la más abundante de la membrana de los discos y sacos, y está formada por la *opsina* (Recuadro 33-5), una apoproteína de 38 kDa, y el grupo

Recuadro 33-5. OPSIAS

Las *opsinas* son las apoproteínas con estructura serpentina de 7 fragmentos transmembrana (7TM), implicadas en la fotorrecepción, que unen el retinal. Son ubicuas, y se encuentran en la membrana de *halobacterias*, todo tipo de células fotorreceptoras animales, la glándula pineal o los melanóforos de piel e iris de rana, donde controlan los movimientos de los melanosomas y la constricción/dilatación del iris. Exceptuando las de *halobacterias*, su asociación a proteínas G y la secuencia de las *opsinas* son muy semejantes, lo que indica un origen ancestral común.

La *Halobacterium halobium* es una arqueobacteria salina con una membrana separable en tres fracciones, amarilla, roja y púrpura. La última contiene *bacteriorrodopsina*, de secuencia muy distinta a las de las rodopsinas de animales. Sin embargo, es un modelo muy estudiado por tener la estructura 7TM. La bacteria, en presencia de luz, sintetiza ATP porque la bacteriorrodopsina fotoactivada expulsa 2H⁺ por fotón. El retinal en reposo es todo *trans*, está unido a la K216 y tiene contactos con 6 de los 7 fragmentos

transmembrana, bloqueando el canal protónico. Cuando se fotoactiva, el doble enlace en el C13 se isomeriza a *cis* (las rodopsinas superiores se isomerizan en el C11 y al contrario, de *11-cis* a todo *trans*) desbloqueando el canal y permitiendo el bombeo de protones.

La reisomerización a todo *trans* ocurre sin separación de la apoproteína, por un mecanismo que es una de las diferencias más significativas entre las opsinas de los vertebrados e invertebrados. En los invertebrados se reisomeriza de *trans* a *cis* sin abandonar su lugar, por la flexibilidad de la opsina invertebrada. Estas opsinas tienen un residuo aromático (Y103) en el tercer TM, mientras que la mayoría de las opsinas de los vertebrados tienen siempre un residuo ácido en esa posición. La melanopsina de los melanóforos de *Xenopus* sigue el esquema de invertebrados y tiene la Y103 y un extremo C-terminal citoplasmático largo.

La asociación opsina-retinal es muy versátil, y pequeñas diferencias dan lugar a propiedades diferentes. Variaciones en la secuencia de las opsinas producen proteínas con máximos de absorción a longitudes de onda diferentes, desde el UV (ultravioleta) hasta el IR (inflarrojo). Las

rodopsinas humanas S (azul, 419 nm), M (verde, 531 nm) y L (roja, 559 nm) son sólo ejemplos de las innumerables rodopsinas presentes en las retinas del reino animal. El perro y el gato son dícrómicos, y tienen sólo 2 rodopsinas, una para luz de longitud de onda corta (450 nm) y otra para la de longitud de onda larga (555 nm). Datos de evolución indican que la duplicación humana verde/roja apareció recientemente (unos 40 millones de años) dándole al primate la posibilidad de discernir entre el fruto inmaduro (verde) y el maduro (rojizo).

En las rodopsinas humanas y de primates, el retinal está siempre unido a la K296 en el séptimo fragmento transmembrana, y son los aminoácidos vecinos lo que hace cambiar la longitud de onda de absorción máxima. Las diferentes rodopsinas se diferencian en la estructura primaria de la cadena polipeptídica, y algunas mutaciones las hacen intercambiables. Por ejemplo, las mutaciones A180S, F227Y y A285T (en los tres casos cambia un residuo hidrofóbico por uno hidroxilado) transforman la rodopsina M en L. Estas mutaciones son la base de muchos *daltonismos*, con imposibilidad de diferenciar verde de rojo.

prostético 11-cis-retinal. Este aldehído con 6 enlaces dobles conjugados es el responsable más directo de la absorción de luz, puesto que esa alta conjugación electrónica lo convierten en un cromóforo con fuerte absorción de luz visible ($\epsilon_{500} \approx 40\,000\text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

La estructura tridimensional de la rodopsina presenta siete fragmentos helicoidales hidrofóbicos que atraviesan la membrana, dispuestos en forma de haz, dejando en el interior del haz un bolsillo hidrofóbico que contiene el 11-cis-retinal. Los fragmentos hidrofóbicos están conectados por fragmentos de cadena polipeptídica más hidrofílicos sin estructura secundaria definida, que actúan de bucles de conexión a ambos lados de la membrana discal, donde se integra. La última de estas zonas hidrofílicas, el segmento del extremo C-terminal, está orientada hacia el citosol bastonal y puede interaccionar con otros componentes del sistema de transducción de señales. Esta zona C-terminal tiene siete residuos de S y T susceptibles de unir grupos fosfato, por lo que puede encontrarse en diferente grado de fosforilación.

El 11-cis-retinal se une a la opsina, a través de un enlace básico de Schiff, con el grupo ε-amino de una lisina, que se conserva en todos los tipos de opsinas existentes (Fig. 33-15). Adopta una posición perpendicular a las hélices transmembrana de la rodopsina en el interior de la molécula, estableciendo interacciones con algunas cadenas laterales de aminoácidos situados en fragmentos distintos, además de la

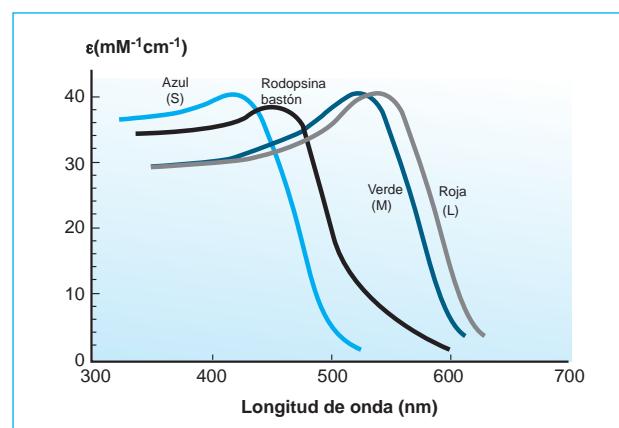


Figura 33-16. Espectro de absorción de las 3 rodopsinas de los conos implicadas para la percepción de los colores azul, verde y rojo y la rodopsina del bastón, implicada en la visión en blanco y negro. El coeficiente de absorción molar de las de color es ligeramente mayor que el de la rodopsina bastonial.

lisina a la que está unida. Estas interacciones pueden modificar su distribución electrónica y hacer variar su espectro de absorción, respecto al que presenta el 11-cis-retinal libre. La capacidad de los residuos laterales de las distintas opsinas de modificar la absorción del 11-cis-retinal, constituye la base de la percepción de colores diferentes.

En los conos existen tres tipos de opsinas con propiedades de absorción distintas. Las tres contienen 11-cis-retinal como cromóforo y secuencias de aminoácidos semejantes, pero con alguna modificación que modula la longitud de onda de máxima absorción de luz. Ello especializa a cada opsina para la percepción de los colores azul (opsina S), verde (M) y rojo (L), respectivamente (Fig. 33-16). El gen humano que codifica la opsina S está situado en el cromosoma 7, mientras que los de las opsinas para el rojo y el verde se localizan en el cromosoma X y son muy similares. La rodopsina de los bastones tiene una interacción distinta con el 11-cis-retinal, lo que da lugar a una banda de absorción más semejante a la del 11-cis-retinal libre, es decir, más ancha y un poco menos intensa que las de las rodopsinas de los conos, lo que la hace apropiada para la visión en blanco y negro.

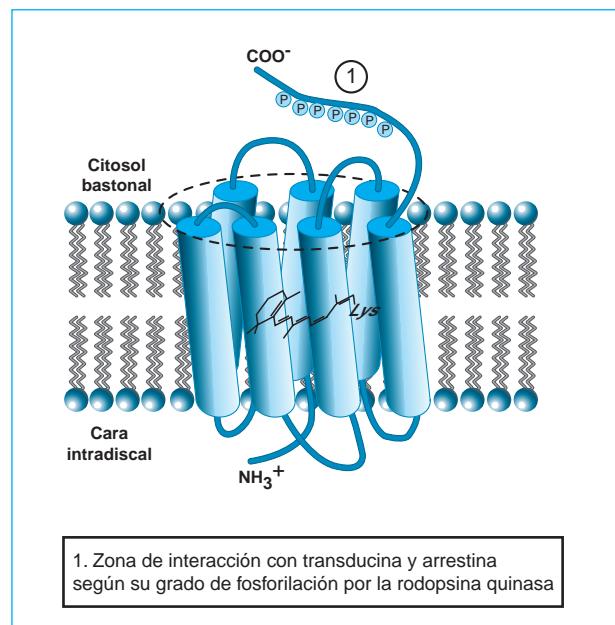


Figura 33-15. Esquema de la molécula de rodopsina en la membrana de los discos bastonales. La proteína tiene 7 fragmentos transmembrana, y el 11-cis-retinal se une a la opsina por una lisina.

33.13 FOTOEXCITACIÓN DE LA RODOPSINA

Cuando un fotón de una determinada longitud de onda de luz visible es absorbido por la rodopsina apropiada, la energía induce, en primer lugar, la isomerización del doble enlace sobre el C11 de la molécula de 11-cis-retinal, produciendo el todo-

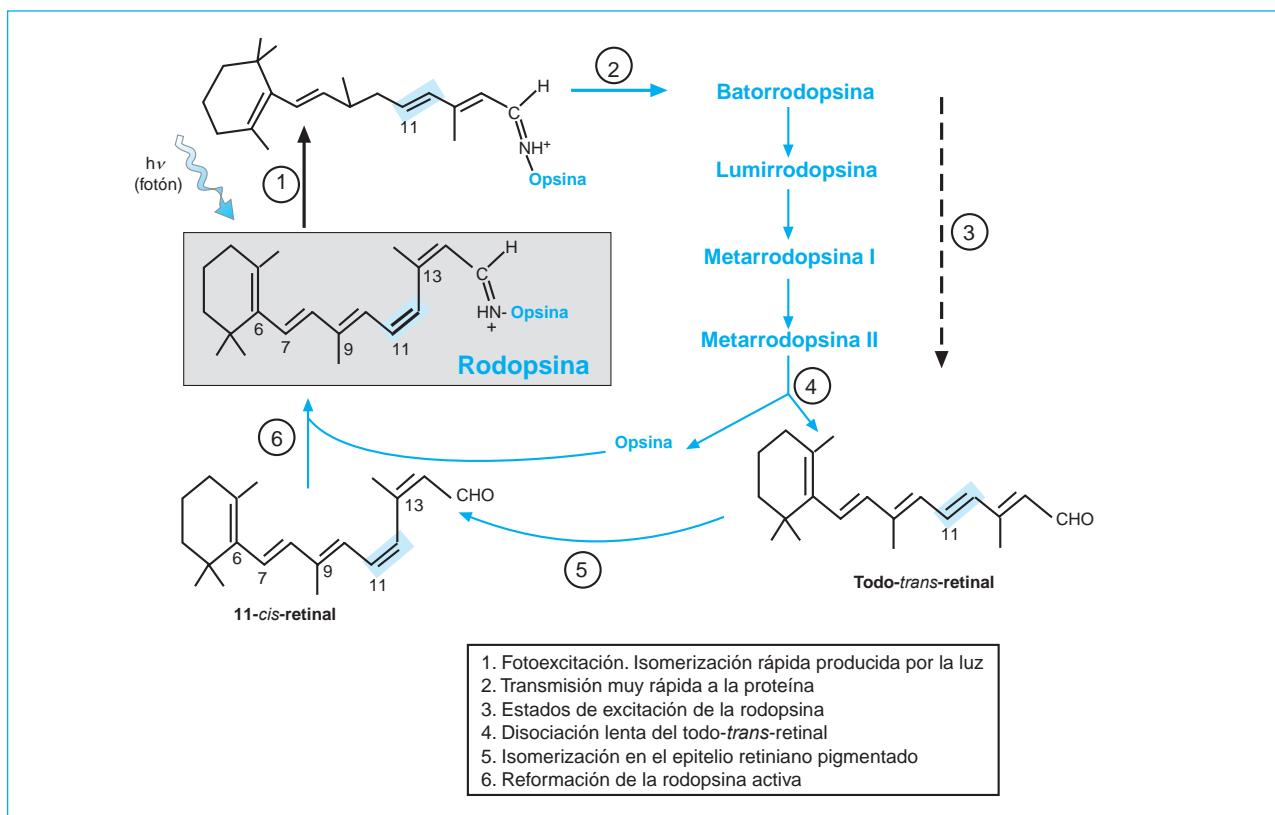


Figura 33-17. Fotoexcitación de rodopsina a batorrodopsina y evolución hasta metarrodopsina. Cuando la rodopsina absorbe el fotón, se isomeriza el doble enlace del 11-cis-retinal hasta todo-trans-retinal. Esta isomerización provoca una serie de cambios metaestables en la proteína hasta metarrodopsina II, que libera lentamente el retinal para que se reisomerize a la forma 11-cis y regenere la rodopsina funcional.

trans-retinal. Esta isomerización provoca toda una serie de cambios de conformación rápidos en la rodopsina. La rodopsina excitada pasa por varios estados metaestables de vida muy fugaz, hasta llegar a la *metarrodopsina II*, que tiene una vida media mucho mayor, de casi un minuto (Fig. 33-17). Es precisamente en este estado cuando puede interaccionar con otras proteínas del sistema de transducción, que transforman, finalmente, el estímulo fotónico inicial en impulso eléctrico.

La *metarrodopsina II* se desactiva porque ese estado excitado termina con la separación forzosa del grupo prostético todo-trans-retinal y la apoproteína opsina. En la oscuridad, el todo-trans-retinal se isomeriza a 11-cis-retinal en el epitelio pigmentado, como se detalló en el apartado anterior (Fig. 33-14). Tras regresar la forma activa a la célula fotorreceptora, se regeneran nuevas moléculas de rodopsina funcional. Por tanto, la esencia de la captación primaria de la luz consiste en que la energía de un fotón produce un cambio de conformación en el 11-cis-retinal unido a la rodopsina, cambio que se comunica a la proteína, de manera que se crea un estado transitorio capaz de activar una cascada de transducción de señales.

33.14 LA CASCADA DE TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES

Esta cascada es un mecanismo que acopla la formación de *metarrodopsina II* con el cierre de los canales de Na^+ para hiperpolarizar la membrana de las células fotorreceptoras y liberar el glutamato. Este sistema es semejante a las cascadas de segundos mensajeros típicos de los mecanismos de acción hormonal (véase el Cap. 12), aunque con peculiaridades propias de la visión. Los procesos se esquematizan en las Figuras 33-18 y 33-19. Se comentan brevemente a continuación:

- Activación de la *transducina* por la *metarrodopsina II*.
- Activación de la *fosfodiesterasa* (PDE) por la *transducina*.
- Hidrólisis del *GMPc* por la *fosfodiesterasa* y cierre de los canales de Na^+ .
- Mecanismos de recuperación del estado basal, necesario para captar nuevos estímulos.
- Adaptación a situaciones de luz prolongadas o a cambios de luminosidad rápidos.

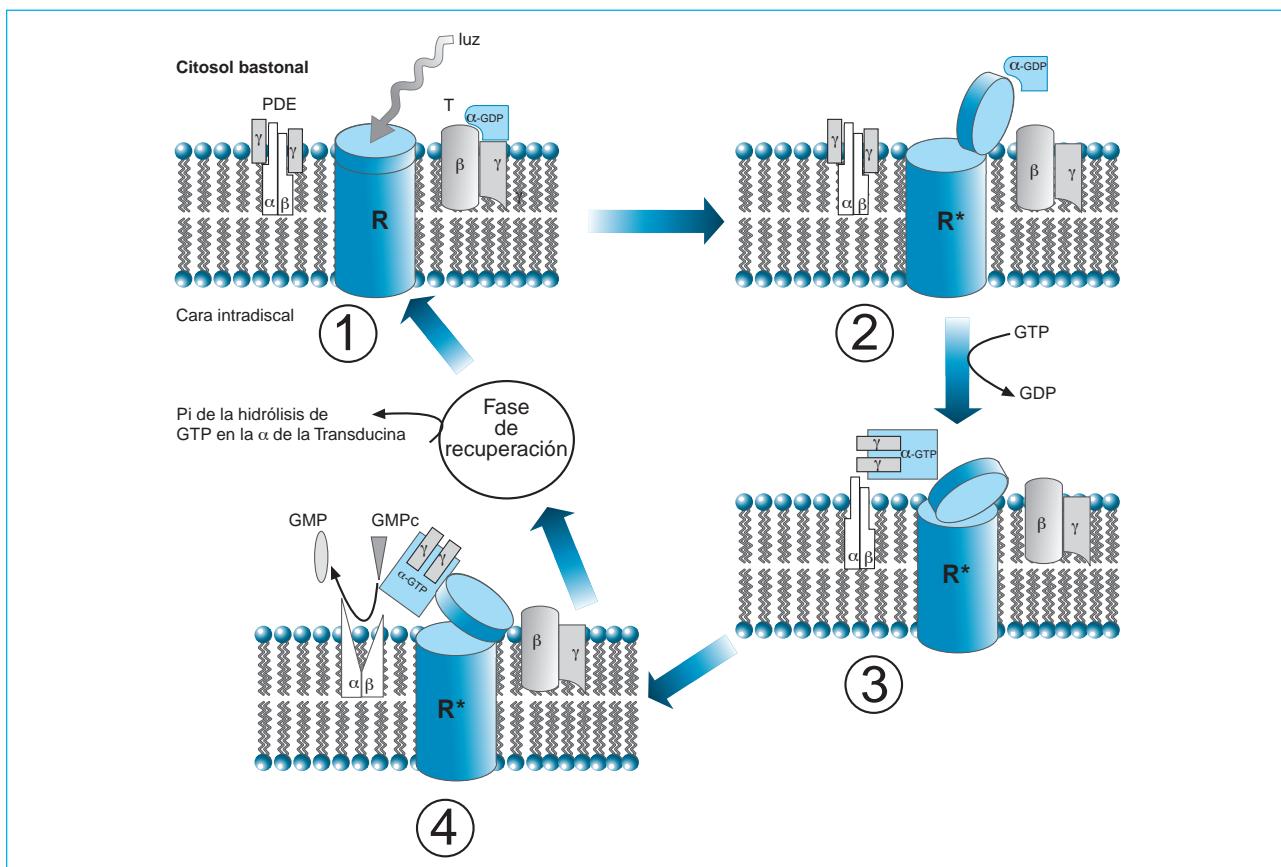


Figura 33-18. Mecanismo de acoplamiento entre la fotoexcitación de la rodopsina y la hidrólisis del GMPc, mediante la activación de la transducina y la fosfodiesterasa. La rodopsina excitada (R^* , 2) libera la subunidad α activa de transducinas (T) cercanas. Esta subunidad une GTP (3) y separa las subunidades γ de la fosfodiesterasa (PDE), que así se activa (4). La señal se amplifica hasta que R^* se inactiva por fosforilación de la rodopsina quinasa. La subunidad α de la transducina se inactiva por su actividad GTPasa residual, reasociándose al dímero (1). Igual reasociación inactivante ocurre con la fosfodiesterasa, volviendo las condiciones iniciales.

33.14.1 Activación de la transducina

La transducina es un heterotrimero perteneciente a la familia de las proteínas G. Está asociada a la cara citosólica de la membrana de los discos y sacos. En reposo, la proteína se encuentra en forma trimérica ($\alpha\beta\gamma$), contiene GDP unido en la subunidad α y no tiene afinidad por la rodopsina no excitada, pero sí la tiene por la metarrodopsina II, de manera que cuando se produce la excitación de la rodopsina por el fotón, se forman complejos metarrodopsina II-transducina. Esta interacción provoca, a su vez, un cambio de conformación en la transducina, que determina el intercambio del GDP por GTP en la subunidad α y la disociación rápida del complejo en la subunidad α activa (con GTP unido), el dímero $\beta\gamma$ y la metarrodopsina II. Esta disociación es el primer elemento de amplificación de la señal lumínosa, puesto que la vida media relativamente prolongada de la metarrodopsina II permite que cada una de ésta active muchas moléculas de transducina.

33.14.2 Activación de la GMPc fosfodiesterasa

La subunidad α , liberada de la transducina, provoca la activación de una **fósforodiesterasa** específica de GMPc. La fosfodiesterasa es un tetramero compuesto por tres tipos de subunidades ($\alpha\beta\gamma_2$). En el tetramero aislado, las subunidades γ inhiben la actividad hidrolítica de GMPc contenida en las subunidades α y β . La subunidad α -GTP de la transducina podría unirse a las subunidades γ de la fosfodiesterasa y suprimir su acción inhibitoria, lo que hace que aflore la actividad hidrolítica del complejo $\alpha\beta$.

33.14.3 Hidrólisis de GMPc y cierre de los canales de sodio

Como consecuencia de la acción de la fosfodiesterasa, el nivel de GMPc en la célula fotorreceptora baja hasta en un 70%. Los canales de Na^+ están abiertos en tanto mantienen

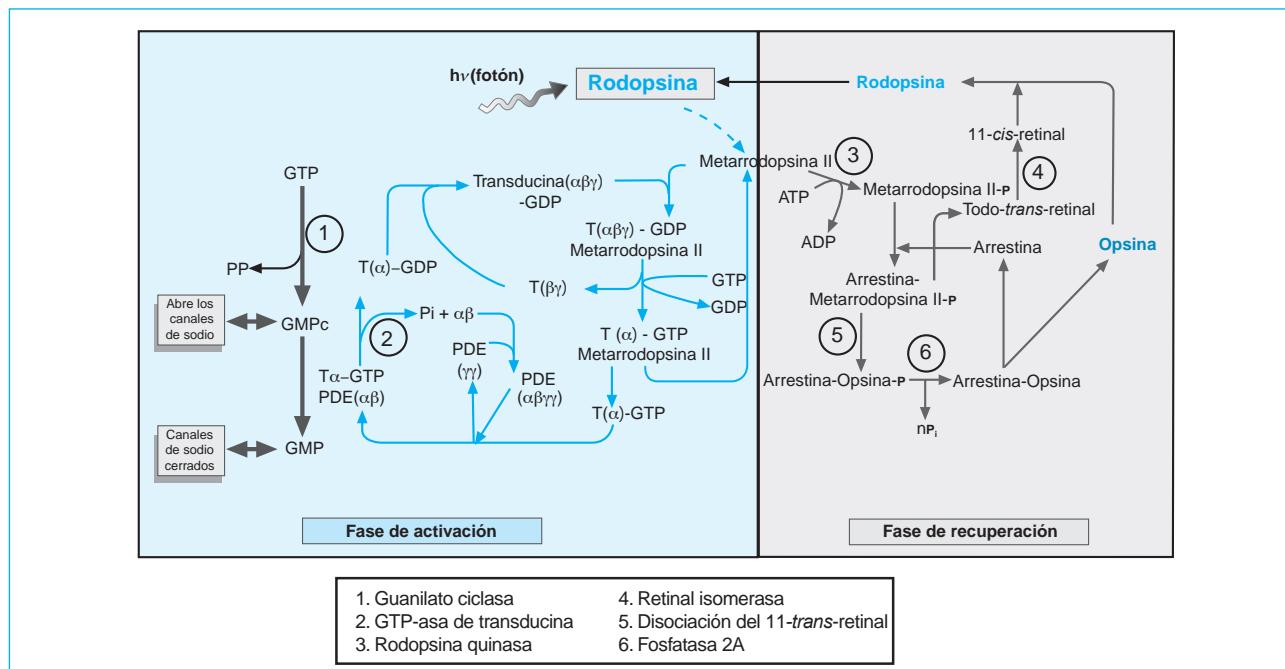


Figura 33-19. La cascada de transducción de señales con la fase de activación (azul) y de recuperación (gris). La fotoexcitación de la rodopsina a metarrodopsina II ocasiona la liberación de la subunidad α de la transducina (T), que activa la fosfodiesterasa, PDE($\alpha\beta\gamma\gamma$), y el complejo $\alpha\beta$ hidroliza el GMPc a GMP y cierra los canales de Na^+ . La transducina se inactiva por su actividad GTPasa residual. El tetramero de fosfodiesterasa inactiva se recupera ($\alpha\beta\gamma\gamma$). Los niveles de GMPc suben por la guanilato ciclase y los canales de Na^+ se reabren. La recuperación se completa cuando la metarrodopsina II se fosforila por la quinasa, perdiendo su afinidad por la transducina y aumentándola por la arrestina. Esta unión provoca la liberación del todo-trans-retinal y la opsina se disocia de la arrestina para que una fosfatasa elimine los grupos fosfato y se pueda reasociar con el 11-cis-retinal.

unidos tres moléculas de GMPc por canal (Fig. 33-13), lo que necesita una concentración alta que sature todos los 3 centros de unión. Una caída del 70% del nucleótido cíclico supone una disociación del GMPc unido, y los canales desprovistos de alguna de las 3 moléculas de ligando se cierran, lo que provoca la hiperpolarización de la membrana de la célula fotorreptora.

33.14.4 Mecanismos de recuperación del estado basal

La desactivación de la cascada de transducción de señales y, con ello, de los niveles basales de GMPc y la consiguiente apertura de los canales de Na^+ transcurre mediante tres desactivaciones sucesivas: la de la metarrodopsina II, la de la subunidad α de la transducina, y la de las unidades $\alpha\beta$ fosfodiesterasa del GMPc (Fig. 33-18).

33.14.5 Inactivación de la metarrodopsina II

En este proceso se distinguen dos etapas. En la primera, que es la propiamente inactivante, se anula la capacidad de la metarrodopsina II de producir subunidades α de transducina

activas y en la segunda, se regenera la molécula de rodopsina para iniciar nuevos ciclos de activación.

En la inactivación participan dos proteínas: la *rodopsina quinasa* y la *arrestina*. La rodopsina quinasa fosforila gradualmente hasta siete residuos de S y T situados en el extremo C-terminal de la metarrodopsina II. Estas fosforilaciones dificultan paulatinamente la interacción con la transducina, de manera que una mayor fosforilación provoca una menor interacción. Pero la inactivación total se consigue porque la metarrodopsina II fosforilada presenta una alta afinidad por otra proteína, la *arrestina*. La formación del complejo *arrestina-metarrodopsina* fosforilada bloquea definitivamente los sitios de interacción con la transducina, y cesa la activación de ésta. En otras palabras, la fosforilación de la metarrodopsina II disminuye su afinidad por la transducina y aumenta su afinidad por la *arrestina* (Fig. 33-19).

En cuanto a la segunda etapa, la regeneración de la metarrodopsina fosforilada a rodopsina nativa supone varias etapas. La unión a la *arrestina* provoca la liberación del grupo todo-trans-retinal. La apoproteína fosforilada, desprovista del grupo prostético, pierde afinidad por la *arrestina* y se disocia, lo que permite que una *proteína fosfatasa* elimine

los grupos fosfato. El resultado final es una molécula de opsina desfosforilada y lista para unir de nuevo el 11-*cis*-retinal.

El todo-*trans*-retinal liberado del complejo arrestina-metarrodopsina fosforilada es rápidamente reducido a todo-*trans*-retinal por la retinol deshidrogenasa existente en el segmento externo de los bastones. Después se transporta al epitelio retiniano pigmentado para su reconversión en el isómero activo (Fig. 33-14).

33.14.6 Inactivación de la transducina y apertura de los canales de Na^+

El mecanismo de inactivación de la transducina es semejante al de otras proteínas G de otros sistemas de transducción de señales. La subunidad α de la transducina posee una actividad GTPasa residual que hidroliza lentamente el GTP enlazado, liberándose GDP y fosfato. El GDP queda unido a la subunidad, y como esta forma posee una alta afinidad por los dímeros $\beta\gamma$, se produce la reconstitución de la transducina inactiva trimérica $\alpha\beta\gamma$.

Puesto que la fosfodiesterasa dependiente de GMPC sólo es activa en presencia de la subunidad α de la transducina, la fosfodiesterasa recupera su forma tetramérica y se inactiva. Al cesar la hidrólisis de GMPC y mantenerse su síntesis por la *guanilato ciclase*, aumenta la concentración intracelular del nucleótido, que se une a los canales de Na^+ y permite que aumente el porcentaje de éstos que se encuentran abiertos.

33.14.7 Bases moleculares de la adaptación a la luz

La sensibilidad del sistema visual no tiene unos valores umbrales absolutos, sino que se adapta a las condiciones existentes y ello afecta a la sensibilidad inmediatamente posterior. Cuando entramos en un local cerrado mal iluminado, inicialmente, casi no tenemos visibilidad, pero, gradualmente, nos adaptamos y recuperamos agudeza visual sin aumentar la intensidad de la luz. Después de la exposición a luz intensa perdemos agudeza visual, y con poca luz no podemos diferenciar colores. En primera aproximación, estos comportamientos son debidos a que los conos son insensibles con niveles bajos de luz y los bastones se saturan con niveles de

luminosidad altos. Pero la base bioquímica de estos procesos de adaptación es multifactorial y parece que entre los factores que intervienen los más importantes son los niveles de Ca^{+2} , de guanilato ciclase y de dos proteínas específicas de células fotorreceptoras, la *proteína sensora de Ca^{+2}* y la *recoverina*.

En condiciones de luz intensa, la concentración de GMPC baja y ello provoca que se cierren no sólo los canales de Na^+ , sino también otros canales menos abundantes, que son específicos de Ca^{+2} y responden igual al nucleótido cíclico. Existe también en la membrana de los bastones una bomba ATPasa intercambiadora que utiliza el gradiente iónico para introducir 4 Na^+ mientras expulsa 1 K^+ y 1 Ca^{+2} . Esto provoca una caída en la concentración de Ca^{+2} , que es detectada por la proteína sensora de Ca^{+2} , que, a su vez, activa la guanilato ciclase, con lo que la concentración basal de GMPC recupera un mayor nivel que el existente, a pesar de estar activa la fosfodiesterasa. En esta adaptación, el umbral preciso para disparar todo el sistema de transducción (disminuir el GMPC, generar la hiperpolarización, etc.) aumenta. La célula fotorreptora (el bastón y también, el cono, aunque en menor medida) se adapta a la luz intensa y reduce su sensibilidad a los pequeños cambios de luminosidad.

Cuando se pasa de la luz intensa a la oscuridad, el proceso revierte lentamente, por lo que en los primeros instantes no se producen hiperpolarizaciones. Cuando los niveles de Ca^{+2} aumentan, desciende la velocidad de síntesis de GMPC. Por otra parte, la rodopsina está en su mayor parte fosforilada, unida a la arrestina, o en cierta medida disociada como opsina. El Ca^{+2} activa una nueva proteína, la *recoverina*, y el complejo Ca^{+2} -recoverina adquiere capacidad inhibitoria sobre la rodopsina quinasa, prolongando la vida media de la forma excitada, la metarrodopsina II. Con ello aumenta la sensibilidad del bastón para generar una señal visual. Así, en ambientes exteriores luminosos, la arrestina está unida a la opsina fosforilada, bloqueando la activación de la transducina. Cuando el nivel lumínico se reduce, la rodopsina quinasa es inhibida por la recoverina y el período para activar moléculas de transducina aumenta, con lo que mejora la agudeza visual en un proceso de adaptación a ese nuevo ambiente de escasez de luz.

En el Recuadro 33-6 se comentan algunas alteraciones metabólico-genéticas de la visión.

Recuadro 33-6.
**ALTERACIONES
 METABÓLICO-GENÉTICAS
 DE LA VISIÓN**

Unos 30 millones de personas en el mundo sufren ceguera total y un número muy superior está aquejado de minusvalías de la visión. Una proporción considerable de estos casos se deben a enfermedades causadas por trastornos metabólicos o genéticos.

Entre las alteraciones metabólicas de la visión destaca la *xeroftalmia*. Puesto que los mamíferos no son capaces de sintetizar β -carotenos, el déficit de vitamina A provoca anomalías de la visión debidas a alteraciones en la formación de rodopsina funcional. La *xeroftalmia* provoca la formación de una película seca y dura sobre la córnea, con pérdida de agudeza visual en condiciones de penumbra y ceguera

nocturna. Todo ello evoluciona a ceguera total si no se aporta la (pro)vitamina A durante períodos prolongados. El *síndrome de Bassen-Kornzweig*, debido a un mal funcionamiento del sistema de absorción de las vitaminas liposolubles, cursa con síntomas parecidos a la *xeroftalmia*. Por otra parte, algunos estados patológicos presentan efectos secundarios importantes sobre la visión. El caso más frecuente es el de la diabetes, que ocasiona una atrofia progresiva del sistema microvascular del ojo, de importancia variable, pero que puede acabar en ceguera. Otro ejemplo es el de las cataratas producidas a consecuencia de la galactosemia.

Dentro de las enfermedades de origen genético, cabe destacar la *ceguera al color*, provocada por alteraciones en los genes que codifican las distintas opsinas, mediante mutaciones que afectan a la interacción de la opsina

con el 11-*cis*-retinal, lo que desplaza el máximo de absorción de las tres rodopsinas esenciales para la captación de los colores en los conos (Fig. 33-16). Pueden ofrecer distinto grado, desde la ceguera para un color o el *daltonismo* (falta de discriminación entre el rojo y el verde), hasta la visión en blanco y negro. En la *ceguera nocturna* estacionaria congénita, enfermedad hereditaria asociada a una alteración de la función de los bastones, el paciente presenta un fondo de ojo normal, pero sufre ceguera nocturna no progresiva, con miopía y agudeza visual reducida. En cambio, la *retinitis pigmentosa* es un proceso degenerativo que afecta al epitelio pigmentario, y que comienza con ceguera nocturna y dificultades en la visión periférica. Generalmente, progresa con la edad hasta llegar a la ceguera total (véase Recuadro 34-3).

RESUMEN

- El sistema nervioso (SN) es el tejido responsable de la integración de los estímulos sensoriales que llegan de nuestro entorno con nuestro acervo de experiencias internas, aprendizaje y memoria para dar la respuesta adecuada. Está formado por el central (SNC), el periférico (SNP) y el autónomo (SNA). Aunque sus células más numerosas son las gliales, las más características son las neuronas, muy ramificadas, con dendritas y el axón para formar una red de conexiones o sinapsis. Las membranas neuronales son muy ricas en proteínas, entre las que destacan los canales iónicos, regulados por voltaje y por ligando, las bombas iónicas, que concentran iones contra gradiente y los receptores que unen neurotransmisores (NT) con gran afinidad y especificidad.
- La base de la neurotransmisión es la existencia de un potencial de reposo en la membrana neuronal por la simetría en las concentraciones de K^+ , Na^+ y Cl^- a ambos lados. Al abrirse el canal de Na^+ , la membrana se despolariza y se genera el potencial de acción. Inmediatamente después, la membrana se hiperpolariza porque la permeabilidad del Na^+ disminuye y aumenta la del K^+ . El canal de Na^+ es el responsable principal del potencial de acción y el más abundante. Consiste en tetrámeros que rodean un poro central. Presenta tres estados, el cerrado activado (durante el potencial de reposo), el abierto (durante el potencial de acción) y el cerrado inactivado (durante la hiperpolarización y la repolarización). Los canales de K^+ son menos abundantes y más heterogéneos. Los de Cl^- son menos ubicuos y están presentes sólo en algunos tipos neuronales. La apertura de los dos últimos produce hiperpolarización. Las neuronas reciben múltiples señales en distintas sinapsis y con la intervención de diferentes canales las integran y codifican en términos de frecuencia de respuesta y adaptación a señales constantes.
- Tras la llegada del impulso a la sinapsis, se produce la comunicación interneuronal. Además de la transferencia directa de moléculas y iones por uniones estrechas o nexos (sinapsis eléctricas), la forma más característica es la secreción, o liberación de NT (sinapsis químicas). Los NT se clasifican estructuralmente en 5 grupos, acetilcolina, catecolaminas e indolaminas, aminoácidos, péptidos y purinas y, en función de su efecto, son excitadores o inhibidores. Además de su efecto directo, pueden modular o complementar la de otros, lo que introduce los términos cotransmisor y neuromodulador. Cada NT tiene receptores específicos, bien acoplados a los canales iónicos o sistemas de transducción de señales. Los NT se almacenan en vesículas sinápticas y se liberan por un aumento del Ca^{2+} intracelular, que se une a la calmodulina y activa la proteína quinasa dependiente de Ca^{2+} /calmodulina para fosforilar varias proteínas, que producen el movimiento de las vesículas, su fusión con la membrana y la liberación de su contenido.
- Los órganos sensoriales captan estímulos externos y los convierten en señal eléctrica. La proteína receptora del estímulo puede ser directamente un canal iónico, pero en la visión y el olfato, el receptor y el canal iónico no son la misma proteína, y la conexión entre ambos está mediada por proteínas G. La visión tiene situadas en la retina las células fotorreceptoras (CF), conos y bastones, con canales de Na^+ controlados por GMPc. En el estado basal, los niveles de GMPc mantienen abiertos los canales. Tras la llegada de una estimulación luminosa, disminuye el GMPc, los canales de Na^+ se cierran, la membrana se hiperpolariza y se libera glutamato, que transmite los impulsos hasta el cerebro por el nervio óptico. Los cambios del GMPc están basados en la isomerización del retinal. El precursor es el β -caroteno de la dieta, que tras varias reacciones alcanza el epitelio retiniano pigmentado en forma de todo-*trans*-retinol, y se transforma en 11-*cis*-retinal para la síntesis de rodopsina por unión a las opsinas en la CF. En los conos existen tres tipos de opsinas especializadas para la percepción de los colores azul, verde y rojo. La rodopsina de los bastones es apropiada para la visión en blanco y negro. El 11-*cis*-retinal se une a un grupo ϵ -amino de una lisina de la opsina y adopta una posición interior entre las hélices transmembrana de la rodopsina, a su vez, situada en la membrana de los discos, o sacos de las CF.
- Cuando un fotón de luz es absorbido por la rodopsina apropiada, induce la isomerización del doble enlace del C11 del 11-*cis*-retinal a todo-*trans*-retinal. Esta isomerización provoca cambios conformacionales en la rodopsina que se comunican por una cascada de transducción de señales para cerrar los canales de Na^+ y liberar el glutamato. En la cascada de activación intervienen la transducina y una fosfodiesterasa que hidroliza el GMPc. En la fase de recuperación del estado basal intervienen la rodopsina quinasa y la arrestina y, en la de adaptación a situaciones de luz prolongadas o a cambios de luminosidad rápidos, intervienen los niveles de Ca^{2+} , una proteína sensora de Ca^{2+} , la guanilato ciclase y la recoverina.

EVALUACIÓN

1. (A). El aminoácido NO neurotransmisor es:
 - a. Glu.
 - b. Asp.
 - c. Lys.
 - d. Gly.
 - e. GABA.

2. (B). Células gliales:
 1. Suponen un 90% del volumen total del sistema nervioso.
 2. Actúan como sostén del tejido nervioso.
 3. Según su tamaño se distinguen las macroglias y las microglias.
 4. Los astrocitos, oligodendrocitos y células de Schwann pertenecen a las macroglias.

a b c d e

3. (C). Los canales regulados por ligando participan, fundamentalmente, en la transmisión intraneuronal PORQUE son canales cuya conformación puede cambiar con la unión a un neurotransmisor o ligando.

a b c d e

4. (B). Canales iónicos:
 1. Permiten el paso selectivo de iones, sin gasto energético, siempre a favor del gradiente.
 2. Los regulados por voltaje cambian su conformación cuando cambia el potencial de membrana.
 3. No responden a señales por debajo del valor umbral.
 4. Una vez que la señal supera el valor umbral, la respuesta depende de la intensidad de ésta.

a b c d e

5. (B). Potencial de acción:
 1. Se genera con el incremento brusco (miles de veces) de la permeabilidad hacia el sodio.
 2. En décimas de milisegundo la membrana cambia de potencial de reposo negativo a positivo.
 3. Al proceso anterior se le llama despolarización.
 4. La hiperpolarización ocurre como consecuencia de la subsiguiente disminución de la permeabilidad para el sodio y el aumento de la del potasio.

a b c d e

6. (A). Concentración de cationes en los líquidos corporales:
 - a. El sodio es el catión con mayor concentración extracelular.
 - b. El potasio es el catión extracelular de mayor concentración.
 - c. El calcio es el ion menos abundante del organismo.
 - d. El magnesio, al igual que el potasio, es un ion extracelular típico.
 - e. Dos de las proposiciones son ciertas.

7. (C). El potencial de reposo de una neurona depende de los de los principales iones sodio, potasio y cloruro y globalmente, es negativo PORQUE los potenciales de equilibrio del sodio y el cloruro son negativos y sólo el del potasio es positivo.

a b c d e

8. (B). Relación directa entre neurotransmisor y receptor:
 1. Acetilcolina: nicotínico.
 2. GABA: muscarínico.
 3. Glutamato: NMDA.
 4. Serotonina: β -adrenérgico.

a b c d e

9. (A). Uno de los siguientes péptidos NO tiene propiedades neuroactivas:
 - a. Sustancia P.
 - b. Glutatión.
 - c. Encefalina.
 - d. Endorfina.
 - e. Péptido intestinal vasoactivo.

10. (B). Estructura celular de la retina:
 1. Las células bipolares contienen los pigmentos encargados de la visión del color.
 2. Las células del epitelio pigmentado contienen melanina.
 3. El número de conos en la retina es unas diez veces superior al de bastones.
 4. Los axones de las células ganglionares forman parte del nervio óptico.

a b c d e

11. (A). Potencial de membrana de las células fotorreceptoras:
 - a. En la oscuridad, el potencial de reposo de las células fotorreceptoras es de -40 mV.
 - b. En el fotorreceptor excitado, pero no en el fotorreceptor en reposo, funciona una ATPasa dependiente de Na^+ y K^+ , que bombea iones Na^+ contra gradiente.
 - c. En las células fotorreceptoras excitadas se produce una entrada de Na^+ como consecuencia de la apertura de canales específicos, lo que provoca la despolarización de la membrana.
 - d. El potencial de membrana de las células fotorreceptoras varía esencialmente en función de los movimientos de iones Cl^- .
 - e. Todo lo anterior es cierto.

12. (B). Estructura del retinal:
 1. El 11-cis-retinal contiene un anillo de benceno que capta fotones ultravioleta.
 2. El 11-cis-retinal y el todo-trans-retinal contienen el mismo número de átomos de carbono, pero distinto número de átomos de hidrógeno.

EVALUACIÓN (continuación)

3. La parte proteica del 11-*cis*-retinal es rica en residuos básicos de glicina y prolina.
4. La capacidad del retinal de interaccionar con la luz radica en su carácter hidrofóbico.
- a b c d e
13. (B). La opsina:
- Posee analogías estructurales con algunos receptores para hormonas y neurotransmisores, como los receptores adrenérgicos.
 - En estado nativo, posee estructura dimérica.
 - Contiene sitios de fosforilación en residuos de serina y treonina, posibles sustratos de quinasas intracelulares.
 - Es una proteína periférica de membrana.
- a b c d e
14. (B). Metabolismo del retinal:
- La escisión del beta-caroteno se produce en las células de la mucosa intestinal
 - La reducción de todo-*trans*-retinal a todo-*trans*-retinol se produce a expensas de NADPH.
 - En el epitelio pigmentado, el 11-*cis*-retinol se oxida a 11-*cis*-retinal.
 - El 11-*cis*-retinal se forma directamente a partir del todo-*trans*-retinal, en una reacción catalizada por la retinal isomerasa.
- a b c d e
15. (C). La absorción de un fotón por el 11-*cis*-retinal provoca un cambio conformacional inducido en la opsina POR-QUE el retinal excitado se oxida rápidamente a ácido retinoico, que interacciona con la carga positiva de un residuo de lisina de la proteína.
- a b c d e
16. (A). Activación de la transducina:
- Se produce como consecuencia de la liberación de glutamato por los conos o bastones excitados.
 - Se debe a la elevación transitoria del potencial de membrana de la célula fotorreceptora, tras la captación de un fotón.
 - Se conoce como transducina la forma excitada de la rodopsina.
 - La transducina activada posee mayor afinidad por el GDP que por el GTP.
 - Por interacción con la metarrodopsina II, el trímero de transducina se activa liberando una subunidad que contiene unido GTP.
17. (B). Flujos iónicos en los fotorreceptores excitados:
- Tras la excitación lumínosa, los niveles intracelulares de GMPc en los conos y bastones se reducen hasta un 70%.
 - La transducina activada hidroliza GMPc a GMP.
 - Los canales para sodio del segmento externo de los fotorreceptores se abren por el GMPc.
 - La rodopsina es un canal iónico activado por fotones.
- a b c d e
18. (B). Inactivación de fotorreceptores:
- El complejo rodopsina activada-arrestina es mejor sustrato para la rodopsina quinasa que la rodopsina activada libre.
 - La arrestina posee actividad GTPasa intrínseca.
 - Tras la absorción de un fotón, todo-*trans*-retinal y la opsina forman un aducto covalente que se degrada rápidamente por proteasas.
 - El dímero $\beta\gamma$ liberado a partir de la transducina bloquea los canales de sodio del segmento externo de los bastones.
- a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Bear MF, Connors BW y Caramiso MA: *Neurociencia: Explorando el cerebro*. Ed. Masson-Williams & Wilkins, 1998.
- Ezzell C: Neurobiología del suicidio. *Inv y C* 2003; abril: 16-23.
- Fields RD: las células de la glía. *Inv y C* 2004; junio: 6-14.
- Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM: *Principios de neurociencia*. McGraw-Hill Interamericana. 4.^a ed. Madrid, 2001.
- Koch WW: Biochemical mechanism of light adaptation in vertebrate photoreceptors. *TiBS* 1992; 17:307-311.
- Levitan IB, Kaczmarek LK: *The neuron. Cell & molecular biology*. Oxford Univ Press 1991.
- Misu Y, Goshinara Y: Is L-dopa an endogenous neurotransmitter? *Trends Pharmacol Sci* 1993; 14: 119-123.
- Nestler EJ, Malenka RC: El cerebro adicto. *Inv y C* 2004; mayo: 42-49.
- Newton AC, Williams DS: Does protein quinase C play a role in rhodopsin desentization? *TiBS* 1993; 18: 275-277.
- Ramachandran VS, Hubbard EM: Escuchar colores, saborear formas. *Inv y C* 2003; julio: 21-27.
- Siegel, Agranoff, Albers, Fischer, Uhler (eds.) *Basic Neurochemistry* 6th. ed. Lippincott. Philadelphia, USA, 1998.
- Schnarp JL, Baylor DA: Respuesta de los fotorreceptores a la luz. *Inv y C* 1987; junio: 20-28.
- Smith CUM: *Biology of sensory systems*. J. Wiley & Sons. Chichester. Reino Unido 2000.
- Smith DV, Margolskee R: El sentido del gusto. *Inv y C* 2001; mayo: 4-13.

34.1 INTRODUCCIÓN

En este capítulo se comentarán las características bioquímicas de una serie heterogénea de tejidos (pared de los vasos sanguíneos, tendones, ligamentos, cartílago, córnea, piel, uñas), que se asocian bajo el nombre de tejido conjuntivo o, también, conectivo, y que está formado principalmente, por proteínas fibrosas, proteoglicanos y proteínas de adhesión. No sólo se esquematizará la composición y estructura de este tejido, sino que se comentarán, también, las causas de muchas alteraciones que dan lugar a situaciones patológicas, que son de interés en el contexto de las titulaciones en ciencias de la salud, especialmente, en Fisioterapia o Podología, mientras que en el capítulo siguiente se tratan los tejidos óseo y dental, también, de especial interés en estas titulaciones o en Odontología.

El tejido conjuntivo, a diferencia de otros donde las células ocupan la mayor parte, consiste, básicamente, en un espacio extracelular, que representa un 90% del volumen. Sin embargo, hay que tener en cuenta que los componentes orgánicos del espacio extracelular provienen de las células fundamentales del tejido conjuntivo, los *fibroblastos*, que mantienen esta función, incluso, cuando se especializan en *condroblastos* (células del tejido cartilaginoso) o en *osteoblastos* (células del tejido óseo). En esta matriz extracelular se encuentran proteínas como el *colágeno* (parcialmente estudiado, a nivel molecular, en el Cap. 7) y, en menor proporción, la *elastina*, *fibrilina*, *fibronectina*, *laminina* y otras proteínas aún más minoritarias.

Por otra parte, ocupando la mayor parte de su volumen, se encuentran los *proteoglicanos* (Fig. 34-1), sustancias muy higroscópicas que se hinchan y retienen una gran cantidad de

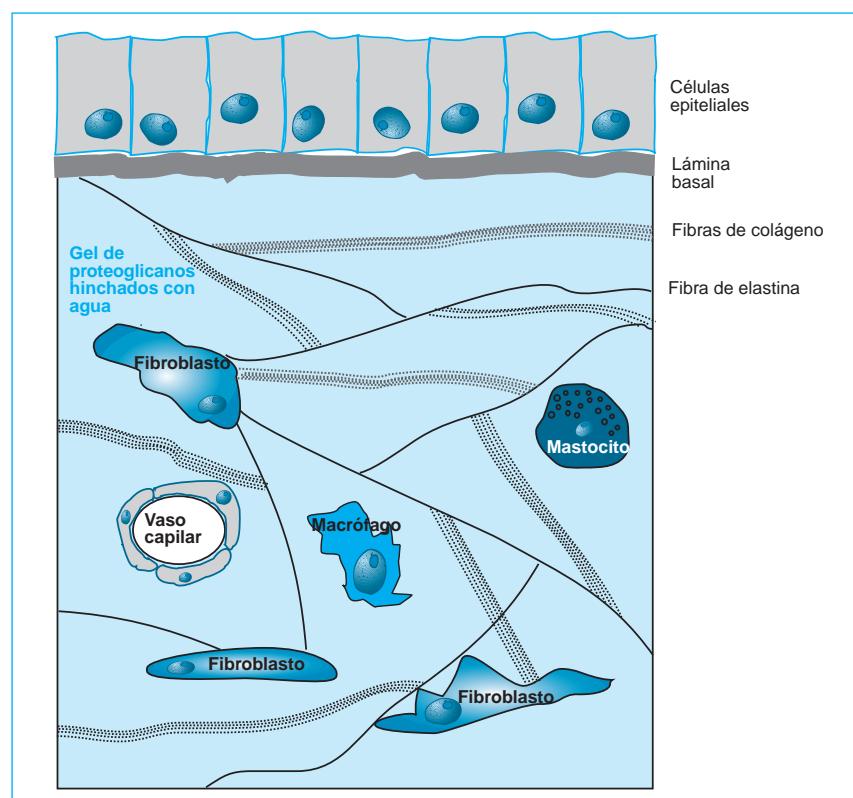


Figura 34-1. Esquema de una sección del tejido conjuntivo, mostrando la capa superior de células epiteliales, la lámina basal colagenosa y el espacio lleno de proteoglicanos, hinchados con gran cantidad de agua en el que se encuentran fibras de colágeno, de elastina, así como algunas células (fibroblastos, algún macrofago y mastocito).

agua. A menudo, se le ha dado poca importancia a estas moléculas porque su estudio estructural es árido, comparado con otras sustancias más atractivas. Además, el tejido conjuntivo ha sido considerado históricamente sólo desde un punto de vista estructural, sin un metabolismo activo, pero debe quedar claro que dicho tejido no es inerte y que su función no es meramente de soporte. No hay que olvidar que este tejido es responsable de una larga serie de enfermedades que van, desde trastornos en el crecimiento, movimiento o disfunciones oculares, hasta la fibrosis hepática.

Se han descrito cerca de 200 defectos congénitos del tejido conjuntivo, conocidos como *conectivopatías*, cuya causa reside en la alteración de la estructura de alguno de los componentes de este tejido. Actualmente, la genómica está dando paso a la proteómica y, en esa nueva perspectiva, las proteínas del tejido conjuntivo están recuperando interés, al poder ser estudiadas mejor por técnicas distintas y más potentes. Aparte de repasar las propiedades fundamentales de los constituyentes del tejido conjuntivo, se comentarán las de otros tejidos relacionados o más específicos, como el cartilaginoso o la piel.

34.2 EL COLÁGENO

Esta proteína es, con mucho, la más abundante en todos los animales superiores, y en el organismo humano constituye, aproximadamente, el 25% de la proteína total. Tiene una estructura muy característica que está muy relacionada con la función que lleva a cabo, capaz de presentar multitud de matices estructurales que se adaptan a las características del microentorno tisular donde se encuentra. El colágeno se caracteriza por formar fibras muy insolubles y muy resistentes a la tracción, pero, a la vez, flexibles y termolábiles, ya que todas se gelatinizan a temperaturas cercanas a los 50 °C. Con estas propiedades, adquiere un papel fundamental en el sostén del tejido conjuntivo y la morfología de cualquier animal. Otra proteína relacionada con el colágeno, la *elastina*, es todavía más flexible y resistente, pero su estructura y estrategia para lograrlo es bastante diferente, cumpliendo las funciones que el colágeno ya no puede cubrir, sobre todo, en los ligamentos y las articulaciones.

Desde el punto de vista estructural, el colágeno está compuesto por secuencias de unidades de *tropocolágeno*, que se repiten de forma regular. Cada unidad de tropocolágeno consta de tres cadenas polipeptídicas trenzadas, muy ricas en glicina y en prolina nativa o hidroxilada, con una estructura secundaria helicoidal de paso de rosca mucho más largo que las hélices α , llamada hélices de poliprolina (véase el Cap. 7).

En los seres humanos existen unos 25 genes que codifican cadenas monoméricas de colágeno, aunque la mayor

parte del colágeno procede de la expresión de dos de esos genes, *COLIA1* y *COLIA2* que codifican las cadenas $\alpha 1$ y $\alpha 2$. Las cadenas se caracterizan también por un número romano que indica el tipo de colágeno donde se encuentran. La diversidad aumenta, aún más, con el grado de glicosilación de las cadenas y según sus combinaciones para formar el tropocolágeno trimérico. En total, se han postulado más de 25 especies de colágeno, de las cuales se han caracterizado sólo 9 (Tabla 34-1).

Tras la transcripción de estos genes y su traducción ribosomal en los fibroblastos, las cadenas polipeptídicas formadas en el fibroblasto siguen un proceso de maduración, hasta convertirse en la unidad definitiva de tropocolágeno, que forma las fibras o la malla de la lámina basal. Este proceso consiste en diferentes etapas secuenciales (Fig. 34-2):

- *Eliminación del péptido guía*, que dirige las cadenas de unos 1450 aminoácidos al retículo endoplásmico y les introduce una primera glicosilación ramificada y rica en manosa, cerca del extremo C-terminal.
- *Hidroxilación*, más o menos extensiva, de cadenas laterales de prolina (en posiciones 3 y 4) y lisina (en posición 5), por la acción de *prolil hidroxilasas* específicas que pertenecen a la familia de las *dioxigenasas* y dependen de distintos factores, entre ellos, el catión Fe(II), el α -cetoglutarato y el *ascorbato* (*vitamina C*). La 4-hidroxiprolina se produce sólo en motivos G-X-P, mientras que la 3-hidroxiprolina y la 5-hidroxiprolina no parecen tener especificidad de motivos secuenciales. Esta dependencia del ascorbato explica alguno de los síntomas clínicos del *escorbuto*, la enfermedad que se produce por déficit de esta vitamina, ya que la no hidroxilación de las cadenas impide la formación adecuada de las triples hélices y la maduración de las fibras de colágeno. Las cadenas son degradadas con rapidez y el tejido conjuntivo, en general, se va deteriorando. El colágeno de los tejidos epiteliales es uno de los más afectados por su mayor recambio, lo que explica la aparición de aftas en las encías y edemas en la piel, entre los síntomas tempranos de esta enfermedad.
- *Nueva glicosilación*, ahora por incorporación covalente de monómeros de galactosa o disacáridos galactosa-glucosa, unidos entre sí por enlaces $\beta(1\rightarrow 2)$ a los hidroxilos de la lisina. El colágeno y la elastina son las dos únicas proteínas conocidas que contienen *hidroxilisina* y se glicosilan en estos hidroxilos.
- *Ensamblaje* de tres cadenas para dar lugar al *procolágeno*, que contiene un gran centro fibroso y unos extremos globulares, llamados *propéptidos*. Los propéptidos en el extremo C-terminal forman varios

Tabla 34-1. Tipos, composición y ubicación principal del colágeno

<i>Tipo</i>	<i>Característica</i>	<i>Tropocolágeno</i>	<i>Ubicación</i>	<i>Contenido</i>
I	Forma fibras (90% del total)	$[\alpha 1(I)]_2[\alpha 2(II)]$	En hueso, tendón, ligamentos, piel, córnea y pulpa dental	HOLys bajo Glicosilación bajo Fibra ancha
II	Forma fibras	$[\alpha 1(II)]_3$	Cartílago, humor vítreo	HOLys alto Glicosilación alto Fibras finas
III	Forma fibras	$[\alpha 1(III)]_3$	Piel joven, vasos sanguíneos, pulpa dental	HOPro alto HOLys bajo Glicosilación bajo Puentes disulfuro extras en C-terminal
IV	Forma mallas	$[\alpha 1(IV)]_2[\alpha 2(IV)]$	Lámina basal	HOLys muy alto Glicosilación alto Pobre en Ala
V	Forma fibras	$[\alpha 1(V)]_2[\alpha 2(V)]$	Idem al tipo I, menor abundancia	HOLys alto Glicosilación alto Pobre en Ala
VII	Forma mallas	$[\alpha 1(VII)]_3$	Lámina del epitelio estratificado	—
IX	Asociado a fibras	$[\alpha 1(IX)][\alpha 2(IX)][\alpha 3(IX)]$	Cartílago	—
XI	Forma fibras	$[\alpha 1(XI)][\alpha 2(XI)][\alpha 3(XI)]$	Idem al tipo II, menor abundancia	—
XII	Asociado a fibras	$[\alpha 1(XII)]_3$	Tendón, ligamentos	—

puentes disulfuro que parece que dirigir el enrollamiento de las 3 cadenas, en el sentido del extremo C al N-terminal. Además, los propéptidos mantienen una buena solubilidad de estas estructuras en el interior del fibroblasto intracelular, impidiendo su agregación temprana.

— *Liberación vesicular y proteólisis* del procolágeno por la acción de *endopeptidasas* extracelulares específicas, que liberan esos propéptidos de los extremos, para dar lugar a la unidad trimérica y muy insoluble de tropocolágeno, que forma las fibras. La liberación de los propéptidos se produce mayoritariamente, pero no en todos los tipos de colágeno ni por igual. En el tipo mayoritario, el propéptido N-terminal contiene unos 150 aminoácidos, y el C-terminal, unos 250, quedando las cadenas con unos 1050, una longitud de unos 300 nm y un grosor de la tritrena de 1.5 nm. Pero, además del tropocolágeno mayoritario, otras endopeptidasas pueden procesar de forma diferente, y

producir otras especies más flexibles que no se asocian de forma tan eficaz y sirven para funciones más especializadas que agregarse en fibras.

— *Entrecruzamiento covalente* entre unidades de tropocolágeno, por la acción de una lisil oxidasa, que precisa cobre y vitamina B₆ para su actividad. Esta oxidasa produce la desaminación oxidativa para dar lugar a un derivado de la lisina con un grupo aldehído en la cadena lateral, llamada *lisinal* o *al-lisina*. La reacción se produce, tanto sobre lisinas como sobre hidroxilisinas, aunque, parece que estas últimas son un sustrato mejor. Posterior y lentamente, quizás, ya sin la intervención de ninguna enzima conocida, estos residuos dan lugar al entrecruzamiento, tanto entre cadenas de una misma unidad, como entre unidades diferentes. Un lisinal y una lisina forman una base de Schiff (*aldimina*), que gana estabilidad por hidrogenación posterior, quedando un puente de *lisinonorleucina* (Fig. 34-3).

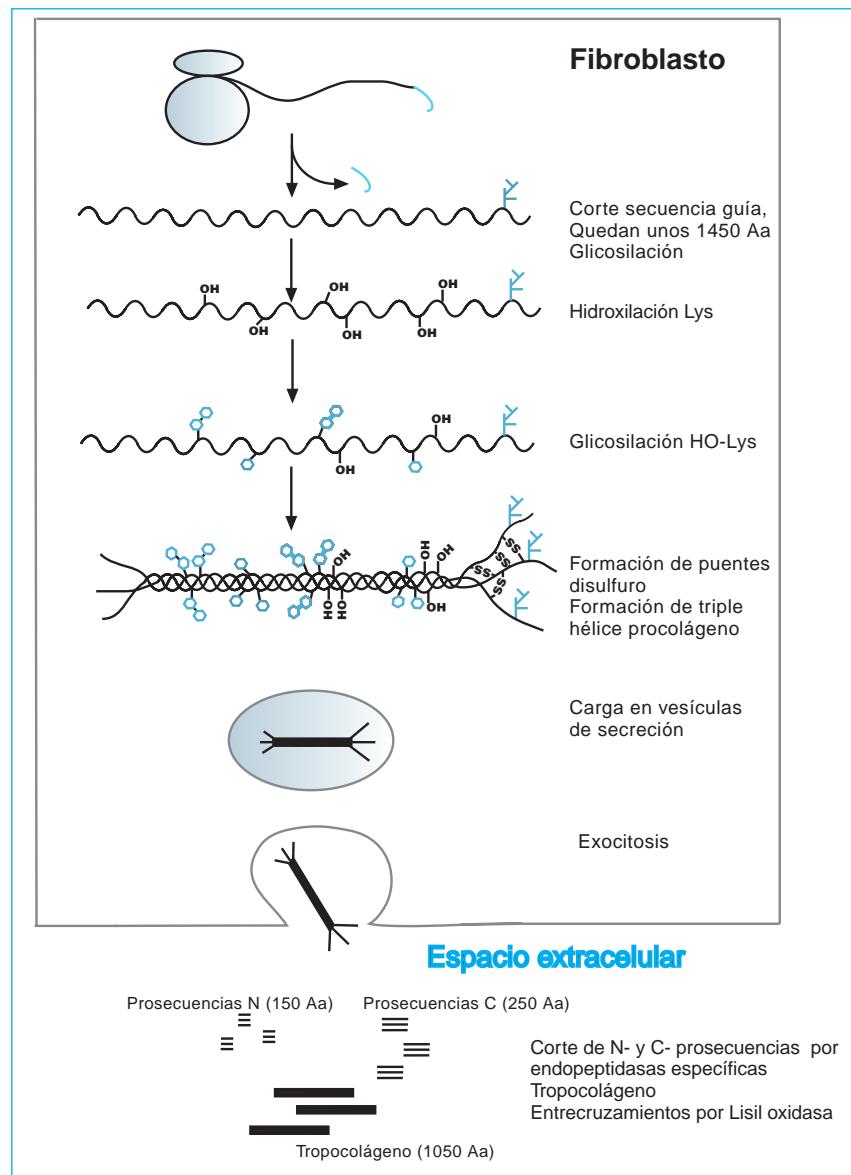


Figura 34-2. Esquema de la maduración y secreción del colágeno, desde su entrada al retículo y eliminación del péptido guía, hasta la formación extracelular de la fibra entrecruzada de colágeno. Para más detalles véase el texto.

En el caso de dos residuos de lisinal, la unión se produce mediante una condensación aldólica, que se deshidrata para su estabilización. Las hidroxilisinas favorecen la condensación aldólica. Incluso se pueden formar otros entrecruzamientos minoritarios con la intervención de otros restos, hidroxilisinas, histidinas y unidades glucídicas. Los entrecruzamientos aumentan la rigidez y la insolubilidad de la fibra y son más numerosas en zonas expuestas a gran tensión, como el tendón de Aquiles. Se forman lentamente y aumentan en número con el tiempo, una de las razones que explican que el colágeno envejecido sea más rígido que el joven, y dé lugar a las arrugas y patas de gallo de la piel, típicas de la edad.

34.2.1 Estructura y tipos de colágeno

Tal como se describe en la Tabla 34-1, existen, básicamente, 3 formas de colágeno. El mayoritario es el colágeno *formador de fibras*, el más insoluble, constituido por unidades de tropocollageno de unos 300 nm de longitud y 1.5 nm de grosor que se entrecruzan para dar fibrillas de 50 nm y éstas maduran hasta fibras observables al microscopio, de hasta 500 nm. Estas fibrillas están formadas por muchas subunidades de tropocollageno alineadas, según el patrón mostrado en la Figura 34-4, donde las cabezas de cada subunidad dejan un espacio de unos 40 nm hasta la cola de la próxima subunidad. Las distintas filas tienen un desfase de, aproximadamente, un

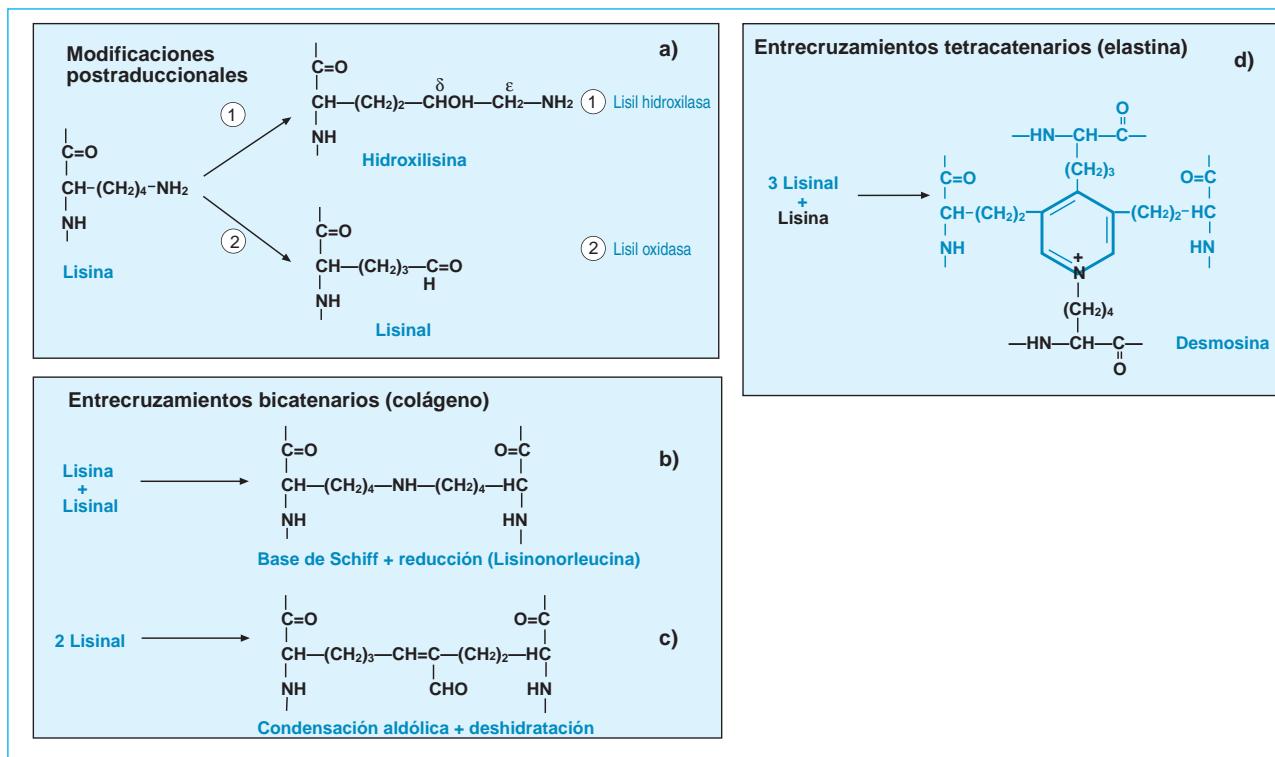


Figura 34-3. Modificaciones postraduccionales que se producen en la maduración y el entrecruzamiento del colágeno y la elastina.
a) Hidroxilación (1) por la lisil hidroxilasa y desaminación (2) por la lisil oxidasa para formar lisinal. La reacción (2) también se produce después de la (1) sobre hidroxilisina para formar 5-hidroxilisinal.
b) Entrecruzamientos por formación de una aldmina para formar enlaces de lisinonorleucina.
c) Entrecruzamientos por condensación aldólica y deshidratación.
d) Entrecruzamiento de 3 lisinales y una lisina para formar desmosina. Una reacción similar produce isodesmosina, y ambas son casi exclusivas de la elastina.

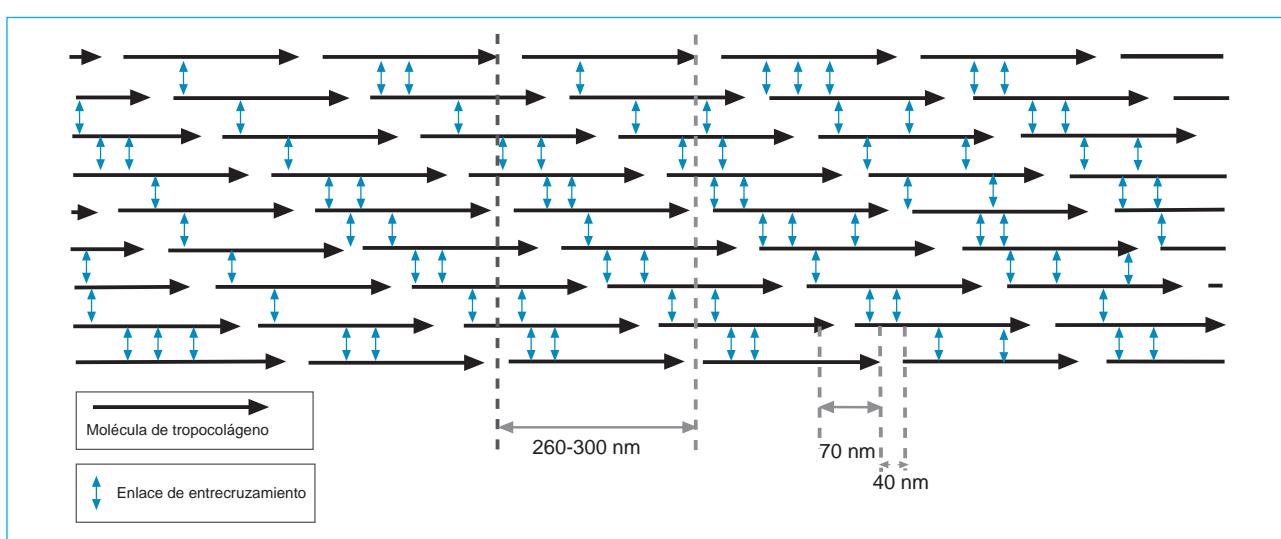


Figura 34-4. Disposición del tropocolágeno en las fibras de colágeno de tipo I y II. El hueco entre cada unidad es de unos 40 nm y el desfase entre filas contiguas, de unos 70 nm. La distancia entre cada fila de tropocolágeno en la red tridimensional, el número y el tipo de enlaces de entrecruzamiento depende del tipo de colágeno, siendo mayor en el tipo I de los tendones o el hueso.

cuarto de la longitud del tropocolágeno, de modo que, cada 4 filas, esos espacios coinciden en la misma vertical, dando a la fibra un patrón de franjas periódicas. Su ordenación es aleatoria en la mayor parte del tejido conjuntivo, pero muy ordenada en algunos casos que necesitan propiedades especiales, como la transparencia en la córnea. Corresponden a este patrón los tipos I, II, III, V y XI, aunque unos tipos son más apropiados para unos tejidos que otros.

Pero existen otras dos formas de tropocolágeno no tan insolubles y con propiedades distintas, el *asociado a las fibras*, también muy distribuido en todo el tejido conjuntivo, y el *formador de mallas*, típico de la lámina basal. El colágeno tipo IX y XII (*asociado a fibras*) está formado por cadenas que tienen discontinuidades cortas (al menos, dos) en la triple hélice, lo que hace a la molécula más flexible por esas zonas. Además, retiene, al menos, parte de los propéptidos, así que estos tropocolágenos no agregan entre sí, sino

que se unen de forma periódica a las fibras de colágeno de otros tipos. El tipo IX se une al II en el cartílago, la córnea (Recuadro 34-1) y el humor vítreo, mientras que el tipo XII se une al I en los tendones y otros tejidos, sobresaliendo unas cabezas globulares de cada subunidad que actúan de puentes para la interacción con otras fibras.

La lámina basal es la estructura de la capa extracelular fina y adherente, embebida debajo de las células epiteliales o entre capas celulares de distinto tejido (p. ej., en el glomérulo renal la lámina separa las células epiteliales de los vasos sanguíneos de las células epiteliales en contacto con el ultrafiltrado urinario). La lámina basal está formada por *colágeno formador de malla* (tipos IV y VII), un colágeno cuyas unidades de tropocolágeno tienen una cierta torsión en su zona extendida y una cabeza globular voluminosa, que le permite interaccionar con otras moléculas estructurales constituyentes de la lámina y formar el entramado, o malla, típico de la

Recuadro 34-1.

EL COLÁGENO DE LA CÓRNEA. COMPARACIÓN CON LAS FIBRAS CRISTALINAS DEL CRISTALINO

Una prueba de la versatilidad del colágeno para formar estructuras conjuntivas distintas es que algunos tejidos colagenosos presentan características únicas. Quizá, un ejemplo ilustrativo que, además, complementa otros aspectos de la visión no abordados en el Capítulo 33 es el ojo de los mamíferos. El perímetro del globo ocular está rodeado por estructuras colagenosas; en la parte interior, la *cubierta esclerótica* y, en la parte exterior, la *córnea* (véase la Fig. 33-12). La cubierta esclerótica es bastante rígida para proteger la retina y mantener la forma del globo ocular y las distancias ópticas. Consiste en tejido conjuntivo denso formado por fibras de colágeno que se disponen de forma irregular y varían mucho en su diámetro, dando el aspecto blanquecino no transparente típico del globo ocular. Por la parte exterior, la córnea está formada por varias capas estratificadas desde el medio externo hasta el humor acuoso, formadas por colágeno y fibroblastos. Dos de estas

capas, las de Bowman y de Descemet, están compuestas por fibras finas de colágeno entrelazadas por una matriz de proteoglicanos. Este colágeno corneal no sólo da consistencia mecánica, sino, también, transparencia por la disposición altamente regular de las fibras de colágeno de tipo I, en unas 200 láminas apiladas semicristalinas. Todas las fibras tienen un grosor muy uniforme, 2 µm, 31 nm de diámetro y están espaciadas cada 55 nm. En cada lámina, las fibras se disponen formando un ángulo con las de las láminas adyacentes, que viene determinado por la posición del colágeno de tipo IX, formando una estructura transparente a la luz. Los proteoglicanos, que forman el 10% del peso seco de la córnea, son higroscópicos y mantienen el equilibrio acuoso de la córnea, lo que también es vital para su transparencia.

El *cristalino* comparte con la córnea la necesidad de ser transparente, pero difiere en que tiene que ser muy flexible para enfocar la luz sobre la retina, lo que no permite estar formado por colágeno. Es un tejido transparente e incoloro, formado casi exclusivamente por células epiteliales. A excepción de algunas células de la superficie anterior íntegras, el resto son células hexagonales alargadas,

llamadas *fibras cristalinas*, sin núcleo ni mitocondrias, para permitir la transparencia del tejido y muy compactadas y conectadas por *conexones* para el intercambio de agua, iones y metabolitos. También, intercambian estos materiales con el humor acuoso, especialmente, mediante una ATPasa muy activa que expulsa Na⁺ y agua. Con ello se consigue una excelente transparecia del cristalino humano para la luz, entre 450 y 1400 nm, aunque la retina no percibe luz por encima de 700 nm.

La base molecular de la transparencia del cristalino (su enfermedad más frecuente son las *cataratas*, en que el tejido se vuelve opaco) es la presencia de proteínas especiales en el citoplasma de las células, las *cristalinas* (90% del peso seco del cristalino). En los humanos existen tres tipos: α, β y γ, pero en los animales no mamíferos existen muchos otros tipos (δ, ε, ρ, τ y π). Las *α-cristalinas* son proteínas de 20 kd que forman multímeros globulares citosólicos de unos 700 kDa y, por tanto, unas 35 subunidades, y se disponen de forma casicristalina. Las *β-cristalinas* forman especies oligoméricas más pequeñas, de 40-200 kDa, y las *γ-cristalinas* son monoméricas.

lámina. Los otros componentes necesarios para esta estructura son la *laminina* (proteína trimérica en forma de cruz con brazos corto y largo), la *entactina* (una proteína pequeña que pinza los brazos de la laminina en la malla) y el *perlecano* (un proteoglicano de heparán sulfato, que sirve de criba molecular para ultrafiltración, caso de la orina, a partir del plasma).

34.2.2 Alteraciones patológicas en la estructura del colágeno

En la estructura del colágeno pueden producirse alteraciones por anomalías en alguno de sus genes o por errores en cualquiera de los pasos implicados en su maduración. Silence ha clasificado estas enfermedades, según la sintomatología y el tipo de colágeno afectado. La forma más abundante de colágeno es el de tipo I (Tabla 34-1), por lo que las disfunciones más frecuentes están relacionadas con dicho tipo, como ocurre en la mayoría de los casos de *osteogénesis imperfecta*, que afecta principalmente al tejido óseo, por la presencia de colágeno en su matriz orgánica (véase el Cap. 35). El colágeno de tipo II está relacionado con las *condrodisplasias*, que producen cartílago anormal y malformaciones óseas. Alteraciones en el colágeno de tipo III dan lugar al *síndrome de Ehlers-Danlos*, o *latirismo*, con piel y vasos frágiles y articulaciones hipermóviles, generalmente, denominadas laxitudes ligamentosas. Finalmente, alteraciones en las formas minoritarias de colágeno dan lugar a síndromes más raros, como la *epidermolisis ampollosa distrófica*, que está ligada a mutaciones en el colágeno de tipo VII.

Osteogénesis imperfecta (OI)

Esta enfermedad se desarrolla por un defecto en el desarrollo óseo que, clínicamente, se manifiesta con frecuentes fracturas, escaso desarrollo de las extremidades inferiores, anomalías dentales, escleróticas azuladas y, a menudo, sordera. En todos los casos descritos hasta ahora, el defecto reside en

una mutación en alguno de los genes que codifican las cadenas polipeptídicas del colágeno. La OI se transmite, por lo general, de forma autosómica dominante, lo que es normal en mutaciones genéticas que afectan a proteínas estructurales, puesto que la alteración de uno de los alelos ya produce una estructura anómala.

La gravedad de la OI parece directamente relacionada con el tipo de mutación y con su posición en el gen de α_1 . Mutaciones en el gen de la cadena α_2 del colágeno de tipo I dan lugar a formas benignas de OI, con riesgo de fractura sólo hasta la pubertad, puesto que en este caso suelen formarse cadenas triples de α_1 que compensan la falta de cadenas α_2 .

La forma más común (OI-I) de la enfermedad (con una incidencia aproximada de 1:15 000) es una manifestación poco grave, de aparición tras varias semanas después del nacimiento, con fracturas frecuentes, sobre todo, antes de la pubertad. La relación entre el colágeno de tipo I y el colágeno de tipo III en el hueso (que, normalmente, es de 85:15), en la OI-I se cifra, aproximadamente, en 50:50.

La OI más grave se conoce como forma letal u OI-II, con abundantes fracturas durante el período perinatal e, incluso, el intrauterino. La supervivencia al cabo de un día de vida es de apenas el 40%, y muy pocos afectados llegan a sobrevivir varios años. Se han descrito distintas mutaciones en los genes del colágeno de tipo I como causas de la OI-II, como la pérdida de nucleótidos en el gen de la cadena α_1 , de manera que resulta una cadena peptídica más corta que, al incorporarse al tropocolágeno origina una estructura deformada (Fig. 34-5), que se transmite a toda la fibra de colágeno. También, se han descrito mutaciones puntuales, en las que se sustituyen restos de G por otro aminoácido, a menudo C, de manera que se introduce en la estructura del colágeno un aminoácido que puede dar lugar a puentes disulfuro (una simple mutación del codón GGT, que codifica glicina, por TGT, da lugar a una cisteína).

Finalmente, existen otras formas de OI de los tipos III y IV muy poco frecuentes y con sintomatología variable, en algunos casos, muy semejantes al síndrome de Ehlers-Danlos.

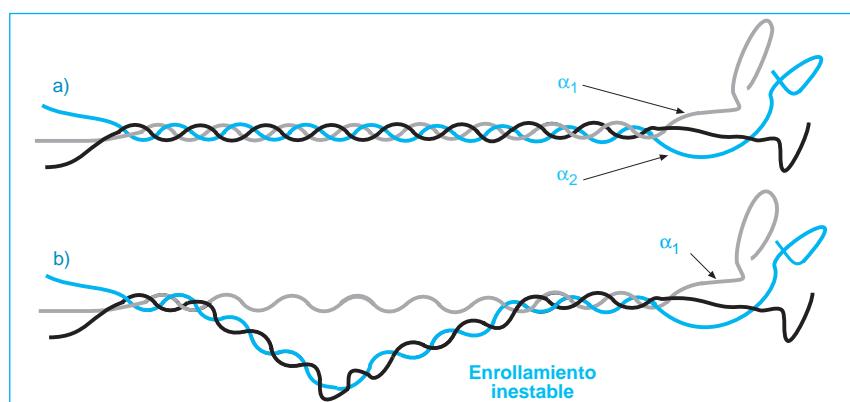


Figura 34-5. Estructura normal (a) y alterada (b) del tropocolágeno. La pérdida de un fragmento del gen que codifica la cadena α_1 del colágeno, en algunos casos de OI, produce una cadena polipeptídica más corta, que distorsiona la estructura del tropocolágeno, induciendo su rápida degradación y la formación de fibras desordenadas.

Laxitudes ligamentosas

Este conjunto heterogéneo de enfermedades representa uno de los trastornos más característicos del tejido conjuntivo, mostrando una gran diversidad en sus manifestaciones y gravedad. La causa de este conjunto de enfermedades es una alteración o una deficiencia en el colágeno. De hecho, la escasez relativa es la causa de la mayor incidencia de laxitud ligamentosa en la mujer.

La manifestación clínica más espectacular de la laxitud ligamentosa es el *síndrome de Ehlers-Danlos*, que consiste en una extraordinaria elasticidad de la piel (en los casos más exagerados, la piel del mentón puede estirarse hasta la frente o la piel del busto hasta el hombro), una hipermovilidad de las articulaciones (algunos «hombres de goma» circenses, por ejemplo), una frecuencia elevada de hemorragias subcutáneas, sobre todo, en las zonas más sujetas a presión, como los talones, las rodillas o los codos, y otras características específicas del tipo de síndrome, como escoliosis y fragilidad ocular. Como procedimiento diagnóstico del grado de laxitud ligamentosa resultan útiles las llamadas maniobras de Wynne-Davies (Fig. 34-6).

El trastorno, en la mayoría de los casos del síndrome, reside en alteraciones del proceso de maduración de las fibras del colágeno de tipo III. La forma mejor caracterizada del síndrome de Ehlers-Danlos (el tipo VI) se debe a la deficiencia de *lisil hidroxilasa*, que provoca una falta de hidroxilisina en el colágeno de los tipos I y III. Pero existen otras muchas formas del síndrome ligadas a deficiencias de otras proteínas, incluyendo las endopeptidasas, que liberan los

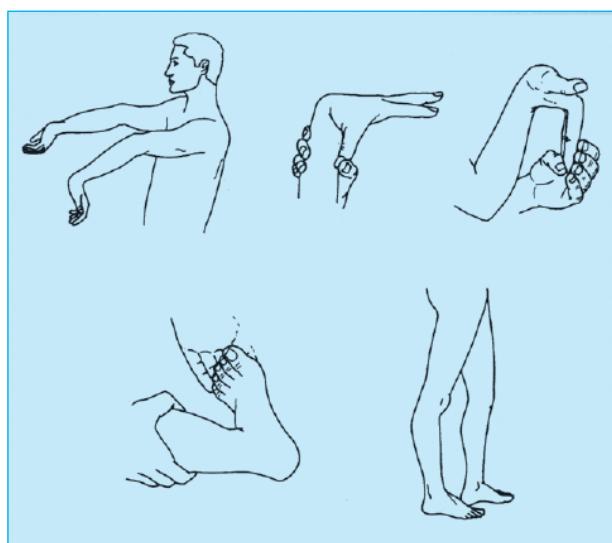


Figura 34-6. Esquema de las maniobras de Wynne-Davies que demuestran la existencia de laxitud ligamentosa por excesiva elasticidad de las fibras de colágeno.

propéptidos, y la *lisil oxidasa*, o ligadas a la deficiencia de cobre, que actúa de cofactor de dicha enzima.

El síndrome puede manifestarse de forma recesiva o dominante, según el gen que esté alterado, y existe, incluso, una forma recesiva ligada al cromosoma X, relacionada con la lisil oxidasa. En todos los casos, resulta un colágeno deficiente, aunque en algunas ocasiones puede, incluso, sacarse provecho de ello (el caso anteriormente citado de los contorsionistas circenses o, incluso, en artes más nobles, puesto que parece ser que el violinista Paganini debía parte de su virtuosismo a la extraordinaria hipermovilidad de sus muñecas), pero, en otras, dificulta considerablemente los movimientos y puede llegar a ser un impedimento para la movilidad del individuo que lo sufre.

En el caso de que la enfermedad sea causada por una inhibición no genética de la lisil oxidasa se denomina, también, *latirismo*. Los nitrilos, como el β -aminopropionitrilo, presente en algunos vegetales, como el guisante dulce, son inhibidores muy potentes de la lisil oxidasa, y desencadenan esta enfermedad.

34.3 ELASTINA

La elastina es una proteína fibrosa semejante al colágeno, pero que tiene la capacidad de extenderse en un mayor grado, sin romperse. Esta capacidad de estiramiento responde a un mecanismo molecular diferente del que utiliza la fibra muscular. La elastina es, especialmente, abundante en los ligamentos, las paredes arteriales, la piel y los pulmones.

Su composición de aminoácidos es, aproximadamente, un tercio de glicina, entre 10-15% de prolina y, en el resto, predominan los aminoácidos hidrofóbicos y la lisina modificada, lo que es clave en sus propiedades y estructura. La principal diferencia con el colágeno es su pobreza en hidroxiprolina y, como consecuencia, no forma estructuras de tipo poliprolina en triple hélice. La elastina no tiene una estructura fibrosa definida, sino una estructura al azar, y los residuos laterales tienen una gran capacidad de movimiento, lo que está íntimamente relacionado con la elasticidad que confiere al tejido donde se encuentra. Cuando se somete a tensión sí adopta una estructura más fibrosa.

Las fibras de elastina recién sintetizadas sufren un proceso de maduración semejante al del colágeno: se forman, primero cadenas de *proelastina*, que en el espacio extracelular se convierten en *tropoelastina* y, finalmente, en elastina muy insoluble por formación de enlaces covalentes cruzados. La formación de estos enlaces precisa de la enzima *lisil oxidasa*, que forma residuos de lisinal, a partir de lisina. Esta primera etapa es similar a la que se produce en el colágeno, pero, en la elastina existen secuencias características, o moti-

vos, en los que dos residuos de lisina están separados por 2 ó 3 de alanina, KAAK y KAAAK. Cuando se encuentran próximas dos cadenas con estos motivos y actúan sobre ellos la *lisil oxidasa*, 3 lisinales y una lisina aún no modificada que hace de núcleo, reaccionan por un mecanismo complejo formando un aminoácido cíclico entrecruzante, la *desmosina* o la *isodesmosina*, que mantiene unidas dichas cadenas (véase Fig. 34-3). La isodesmosina tiene las cadenas laterales unidas a las posiciones 1,2, 3 y 5 del anillo. En la estructura se observa la existencia de un anillo de piridina, en el que el N pertenece a la única lisina no modificada que interviene en la reacción de modificación. El entrecruzamiento no es totalmente específico y, por tanto, la elastina tiene proporciones variables de desmosina e isodesmosina. Lo importante es que estos restos entrecruzan cadenas distintas, lo que permite que la elastina pueda estirarse por tracción mecánica y volver a su posición relajada, confiriéndole sus propiedades elásticas.

Las fibras de elastina, como indica su nombre, se localizan, esencialmente, en los tejidos elásticos, sobre todo, en el tejido conjuntivo que reviste los vasos sanguíneos, especialmente la aorta. Su contenido no excede, normalmente, de un 1-2%, respecto al contenido de colágeno, de modo que es un componente minoritario, al igual que la *fibrilina*. El *síndrome del cutis laxo* es una enfermedad autosómica recesiva, cuyo origen molecular parece hallarse en la baja producción de elastina por inestabilidad de su ARNm. La piel pierde elasticidad y se vuelve laxa, formando arrugas y dando un aspecto envejecido, incluso, a niños o personas muy jóvenes. La única enfermedad genética conocida relacionada directamente con el gen de la elastina es la *estenosis aórtica supravalvular*, producida por cortes y pérdida de fragmentos del extremo 3' del gen.

34.4 LA FIBRILINA

Este componente minoritario del tejido conjuntivo es una glicoproteína de tamaño molecular grande, que puede formar microfibrillas y acompaña a la elastina en las fibras elásticas de la matriz extracelular del tejido conjuntivo de muchos tejidos, como la piel, el pulmón, los vasos sanguíneos, los tendones, el músculo, el cartílago y las zonas ciliares del cristalino.

La *fibrilina* tiene forma de bastón con una cabeza globular, y se alinea en las microfibrillas de forma regular, uniéndose cabeza con cola, con características, en parte, semejantes al tropocolágeno y, en parte, a las fibras de α -queratina (véase más adelante). Su presencia es esencial para que la elastina forme las fibras adecuadamente.

Se han descrito dos genes distintos de la *fibrilina*, localizados, respectivamente, en los cromosomas humanos 5 y 15. En estos genes de la fibrilina es donde parece que resi-

de la causa molecular del *síndrome de Marfan*, una enfermedad autosómica dominante del tejido conjuntivo con una incidencia aproximada de 1:20 000, existiendo una correlación entre las alteraciones en el gen de la fibrilina y la aparición de esta enfermedad. Los pacientes que la sufren presentan manifestaciones clínicas en el tejido osteomuscular, cardiovascular y ocular. Son individuos altos y delgados, con escasa musculatura, con manos y pies estrechos con dedos alargados (*aracnodactilia*), laxitud ligamentosa, a menudo, con deformaciones en el esternón y en la columna vertebral. Se piensa que Abraham Lincoln padecía este síndrome. Parece que mutaciones puntuales (como una sustitución de una P por R) en el caso del gen en el cromosoma 5 conducen a la aracnodactilia, mientras que mutaciones en el del 15 dan lugar, preferentemente, a problemas osteomusculares y cardíacos.

34.5 MUCOPOLISACÁRIDOS, GLICOSAMINOGLICANOS Y PROTEOGLICANOS

Los *mucopolisacáridos* son heteropolisacáridos formados por largos polímeros de unidades repetidas de un disacárido, unidas por enlaces β -O-glicosídicos. Estos polímeros son conocidos, también, como *glicosaminoglicanos*, un término casi sinónimo de mucopolisacáridos exceptuando su aspecto, más o menos duro, según su grado de sulfatación (véase más adelante). Estas moléculas resisten las fuerzas compresivas, mientras que el colágeno o la elastina están diseñados para resistir las de tensión.

El disacárido unidad de estos polisacáridos contiene, salvo excepciones muy puntuales, un ácido urónico (ácido glucurónico o ácido idurónico) y un aminoazúcar que suele estar acetilado (N-acetilglucosamina, N-acetilgalactosamina). Con cierta frecuencia, en el glicosaminoglicano maduro se encuentran algunos otros grupos ácidos con carga negativa adicional, como el sulfato, con mayor o menor abundancia, dependiendo del tipo de glicosaminoglicano. Los más duros contienen más grupos sulfato, y se encuentran en el cartílago y los queratinocitos, mientras que el término de mucopolisacárido hace más referencia al aspecto de masticidad viscosa que presentan. Los principales glicosaminoglicanos, por orden creciente de magnitud, son: *hialuronato*, *condroitín sulfato*, *dermatán sulfato*, *heparán sulfato*, *heparina* y *queratán sulfato* (Fig. 34-7).

El más abundante es el hialuronato, formado por repeticiones de ácido glucurónico y N-acetilglucosamina. Es el más simple y el más largo (hasta 25 000 unidades, frente a 80-100 de la mayoría de los otros), el único no sulfatado y el primero que se sintetiza en embriones tempranos, ocupando

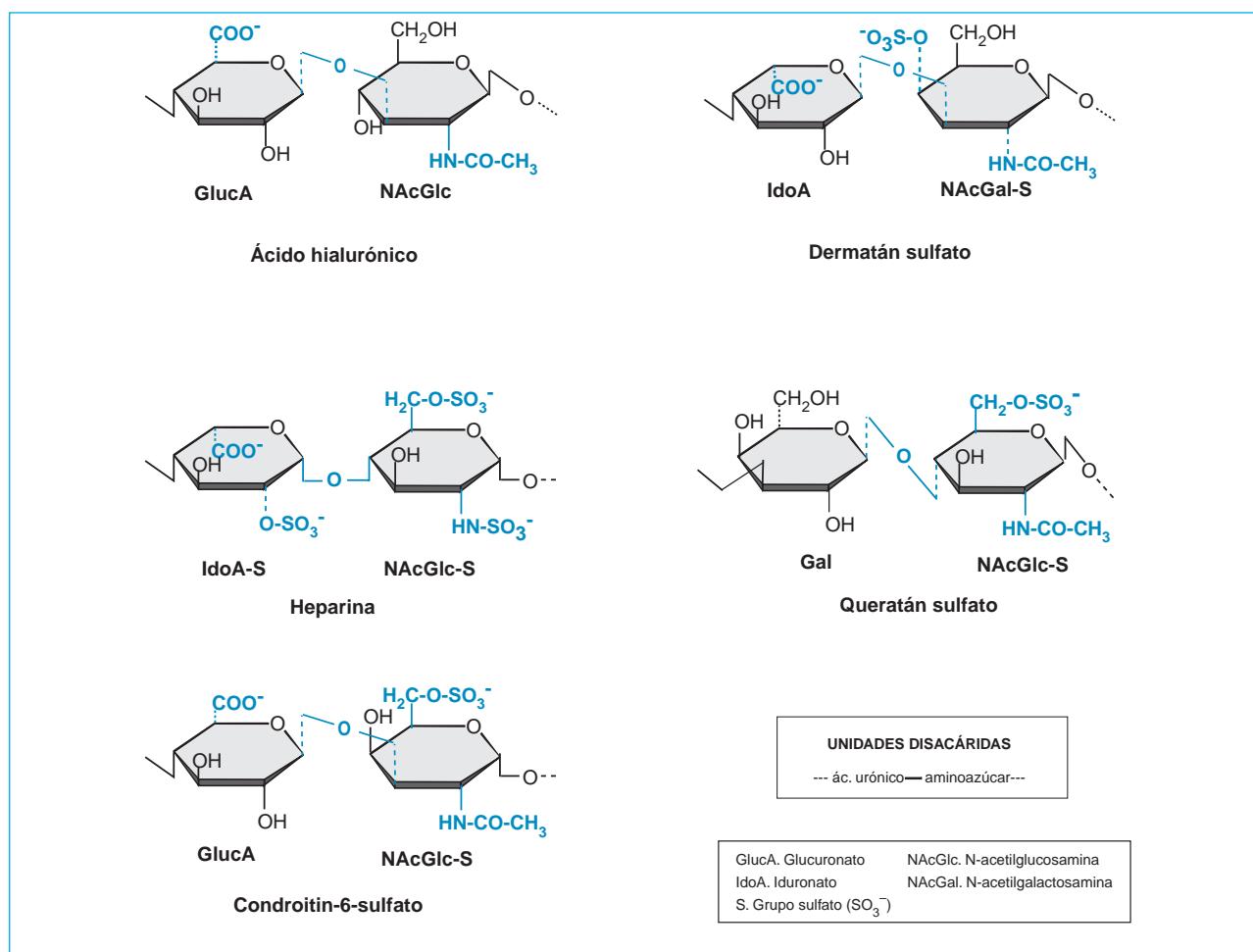


Figura 34-7. Estructura de las unidades diglucídicas de los principales tipos de glicosaminoglicanos.

gran parte del volumen. Tiene un papel muy importante en el humor vítreo del ojo y como lubricante en el líquido sinovial de las articulaciones. Los condroitín sulfatos son importantes en la estructura del cartílago. El queratán es único, porque contiene galactosa en lugar de ácido urónico y es un constituyente menor de la córnea y el cartílago. Los dermatán aumentan su concentración con la edad y la heparina es un poderoso anticoagulante, al inactivar la trombina esencial para la formación de la fibrina (véase el Cap. 30).

Los *proteoglicanos* son estructuras moleculares más grandes y complejas que los mucopolisacáridos, constituidas por una o varias cadenas proteicas a las que se unen, en número también variable, glicosaminoglicanos mediante enlaces O-glicosídicos entre un aminoácido hidroxilado de la proteína núcleo y un tetrasacárido puente Xil-Gal-Gal-glururónico-(disacárido)_n del glicosaminoglicano. Sus tamaños son grandes, con rangos de 40 hasta 100 000 kDa. La porción cuantitativamente más importante de los proteoglicanos es la

glicídica (que puede llegar a ser más del 95% en peso de la estructura total). Ésta es una de las diferencias fundamentales entre proteoglicano y glicoproteína. Las glicoproteínas contienen un porcentaje de parte glicídica menor que, raramente, excede el 50% (Recuadro 34-2).

Los proteoglicanos son muy gelificantes por su gran capacidad de retener agua e hincharse. En peso de tejido conjunto seco, son menos del 10% de las proteínas fibrosas, pero ocupan la mayor parte del volumen. Esto, por una parte, permite el movimiento de moléculas y por otra les permite actuar de filtros moleculares (el *perlecano* de la lámina basal del glomérulo renal filtra el plasma, reteniendo las proteínas y dejando pasar a la orina las moléculas e iones pequeños). Algunos tienen puentes de silicio uniendo cadenas adyacentes, siendo uno de los pocos casos donde es posible encontrar este elemento en mamíferos.

El tamaño de los proteoglicanos es muy diverso, y las proteínas núcleo no tienen motivos comunes que permitan

Recuadro 34-2.

GLICOPROTEÍNAS Y PEPTIDOGLICANOS

Otros componentes con semejanza estructural a los proteoglicanos son las *glicoproteínas* y los *peptidoglicanos*. Las primeras, al igual que algunos proteoglicanos, suelen mostrar un núcleo proteico al que se unen fracciones glicídicas (Fig. 34-8). En ellas, a diferencia de los proteoglicanos, suele predominar la masa de la porción proteínica sobre la de los hidratos de carbono. No obstante, en alguna glicoproteína la porción glicídica puede superar el 50%.

Se encuentran, principalmente, en los líquidos biológicos, como la saliva, y en las membranas celulares, formando el *glicocálix*, de gran importancia en las interacciones y reconocimientos celulares. El número y la distribución de las glicoproteínas, así como su función son muy diversas: estructural (tejido conjuntivo, colágeno), reserva nutritiva (caseína de la leche), enzimática (trombina), transporte (ceruloplasmina), hormonal (eritropoyetina), plasmática (fibrinógeno), inmunitaria (γ -globulinas). Algunas de ellas se tratan en el ámbito de su función en distintos capítulos de este texto, como el caso del Recuadro 5-2 dedicado al lectinoma.

La glicosilación de las glicoproteínas es siempre una modificación postraduccional covalente (véase el Cap. 26) que se realiza a través de aminoácidos como serina, treonina (uniones O) o asparragina (uniones N). En las correspondientes cadenas glicídicas, que suelen presentar bifurcaciones, a menudo participan *osas*, como xilosa o D-galactosa; *desoxiosas*, como L-ramnosa o L-fucosa; *hexosaminas* (frecuentemente acetiladas), como D-glucosamina y D-galactosamina, y ácidos siálicos, como ácido N-acetylneuramínico y ácido N-acetyl-O-diacetilneuramínico. Se han encontrado más de 80 clases de uniones glicosídicas en las glicoproteínas humanas, y se contabilizan hasta cinco donadores principales de azúcares, usados

para la biosíntesis de los oligosacáridos de las glicoproteínas: UDP-azúcares, GDP-azúcares, dolicol monofosfato-azúcares, dolicol difosfato-azúcares y ácido CMP-N-acetilneuramínico.

Además de las glicoproteínas y los proteoglicanos, hay otros compuestos estructuralmente relacionados, aunque no se encuentren en el tejido conjuntivo de los animales superiores. Entre ellos, figuran los *peptidoglicanos*, también denominados *mureína*, que son heteropolímeros de aminoácidos y azúcares, constituyentes de las paredes celulares bacterianas. En las grampositivas, forman junto con los *ácidos lipoteicoicos* una gruesa pared celular multicapa. En las gramnegativas, forman la monocapa interna recubierta de una capa lipídica externa que impide su tinción con el

colorante de Gram. Las cadenas glicídicas son unidades repetidas del disacárido N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico, lo que las asemeja a los glicosaminoglicanos, aunque con la presencia específica de este último ácido.

La unión transversal que cose las cadenas glicídicas se realiza entre el lactato del N-acetilmurámico con cadenas de tetrapéptidos que contienen D-Glu, D-Ala, y una L-Lys, que a su vez, se entrecruza por cadenas de pentaglicina que la unen con una D-Ala de otra cadena adyacente (Fig. 34-9). Estos polímeros son hidrolizados en el enlace glicosídico de las unidades disacáridicas por la *lisozima*, presente en las lágrimas o la saliva, rompiendo la pared bacteriana y siendo la base de la acción bactericida de esta enzima.

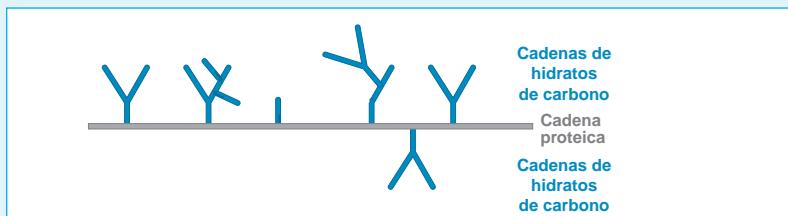


Figura 34-8. Estructura general de una glicoproteína. Las ramificaciones glicídicas están unidas a S, T (*O*-glicosilación) o N (*N*-glicosilación). Las dos primeras suelen tener secuencias diversas, y las unidas a N, tienen una parte inicial común rica en manosa y unidades diversas en los extremos bi- o tri- antenarios.

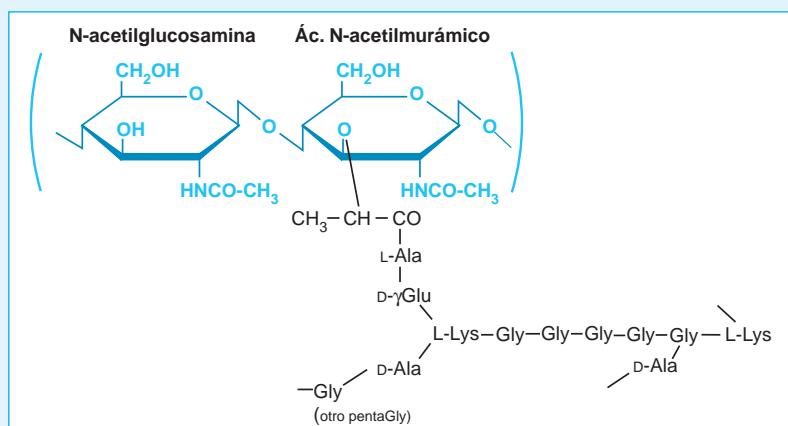


Figura 34-9. Estructura de la unidad fundamental de un peptidoglicano de la pared bacteriana. Obsérvese la presencia de aminoácidos de la serie D y los entrecruzamientos de pentaglicina entre los tetrapéptidos que unen las cadenas glicídicas, que contienen ácido N-acetilmurámico.

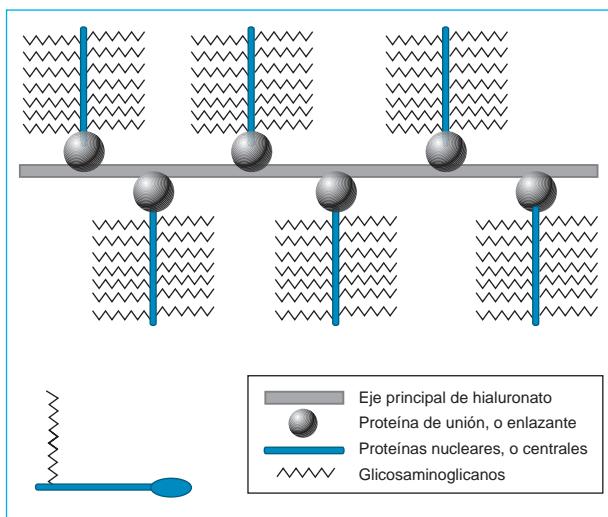


Figura 34-10. Estructura general de los proteoglicanos, desde uno pequeño, como la decorina, a uno gigante típico del tejido cartilaginoso, el agrecano, del que se muestra sólo una parte, pero suele contener más de 100 unidades sobre la cadena de hialuronidato.

una clasificación estructural. Por ejemplo, la *decorina* (40 kDa) segregada por fibroblastos es de los más pequeños, sólo tiene una proteína núcleo y un glicosaminoglicano. Los *agrecanos* (Fig. 34-10) de cartílago son los más grandes (100 MDa), y una sola molécula ocupa el mismo volumen que una bacteria entera. Tienen un eje principal de hialuronato donde se unen de forma no covalente más de 100 proteoglicanos «monoméricos» constituidos por una proteína núcleo con decenas de glicosaminoglicanos (condroitín y queratán sulfatos alternantes) unidos covalentemente por el tetrasacárido puente. La unión entre cada proteoglicano monomérico y el eje de hialuronato se produce a través de una proteína enlazante (dímeros globulares, con dominio catiónico de unión al hialuronato y de la familia de las *hialadherinas*).

La matriz extracelular es muy rica en proteoglicanos, que se distribuyen ampliamente en huesos, cartílago, dientes, líquido sinovial, córnea y humor vítreo, con funciones tanto estructurales como reguladoras de la secreción de fibroblastos. Entre las funciones estructurales se encuentran ser cemento intercelular, conferir elasticidad y turgencia a la piel, absorber presión en el cartílago, o constituirse en compuestos lubricantes, filtros moleculares y fijadores de agua y cationes. Los proteoglicanos no son sólo estructurales, sino que regulan actividades de moléculas de secreción, como son los factores de crecimiento FGF y TGF- β (véase el Cap. 27), actuando de correceptores de estas moléculas en las membranas celulares (caso de los *betaglicanos*). También, regulan la secreción de anticoagulantes, protectores epiteliales y la *lipoproteína lipasa* en el endotelio vascular.

La biosíntesis de los proteoglicanos es compleja y costosa en términos energéticos. Los más abundantes en el ser humano son los condroitinsulfatos. En primer lugar, hay que contar con las proteínas centrales, sobre las que diversas enzimas *transglicosidasas* van situando los hidratos de carbono de unión (xilosa, galactosa), previamente activados en forma de UDP-derivados. Tras ello, se van añadiendo alternativamente, de modo similar, las unidades de glucuronato y N-acetilgalactosamina, que forman el disacárido de repetición del eje de ácido hialurónico, siempre activadas por unión a nucleósidos difosfato. Para finalizar, una *sulfotransferasa* que usa como donador el fosfoadenosilsulfato se encarga de introducir los grupos sulfato en las posiciones 4 y 6 del aminoazúcar, para completar el condroitinsulfato A o C.

34.5.1 Enfermedades relacionadas con la degradación de la matriz extracelular

La degradación de la matriz extracelular es un proceso crítico en muchos procesos biológicos del tejido conjuntivo. Es normalmente lenta, como en el caso del hueso, aunque, a veces, está programada para que sea rápida (el renacuajo, en la metamorfosis o durante la involución del útero, después del parto). Algunas veces, tiene lugar con efectos no deseados, como cuando las células cancerosas degradan la lámina basal u otras estructuras del tejido conjuntivo para invadir otros órganos y para dar lugar a metástasis (véase el Cap. 29).

Las proteasas que llevan a cabo el proceso son secretadas por las células adyacentes ante estímulos específicos, y su naturaleza es muy variada. Las más numerosas son *metalloproteasas de la matriz* (MMP), como las *colagenasas*, muy específicas para degradar colágeno, cuyo centro activo depende de Ca^{+2} o Zn^{+2} , o *serina proteasas* (como las enzimas digestivas, que tienen serina e histidina en su centro activo), del tipo de la *elastasa*. Su acción se regula por múltiples factores tanto activadores como inhibidores proteicos específicos. Existen 23 genes humanos que codifican las MMP. La mayoría se localiza en un grupo situado en el cromosoma 11 y su acción afecta no sólo a las proteínas fibrosas, sino también a proteínas de adhesión celular, receptores de factores de crecimiento, etcétera. Las alteraciones en estos genes se relacionan con diversas enfermedades: cáncer, artritis, afecciones cardiovasculares y fibróticas, aunque es infrecuente que el defecto en las MMP sea la causa primaria de la enfermedad. Pertenecen a este raro apartado el síndrome de la *osteólisis artropática nodular* debida a la ausencia de MMP2, heredado de forma autónoma recesiva y que se manifiesta con artritis crónica y nódulos subcutáneos en las manos y los pies.

Las alteraciones en la degradación de proteoglicanos y glicosaminoglicanos dan lugar a enfermedades congénitas

Tabla 34-2. Tipos de mucopolisacaridosis

<i>Tipo</i>	<i>Nombre</i>	<i>Enzima afectada</i>	<i>Producto acumulado</i>
I	Hurler Scheie	α -iduronidasa	Dermatán sulfato Heparán sulfato
II	Hunter	α -iduronato sulfatasa	Dermatán sulfato Heparán sulfato
III	San Filippo A B C D	<i>Heparan-N-sulfatasa</i> α -N-Ac-glucosaminidasa AcCoA-N-Ac-transferasa N-Ac-glucosamina sulfatasa	Heparán sulfato
IV	Morquio A B	<i>Galactosa-sulfatasa</i> β -galactosidasa	Queratán sulfato
VI	Maroteaux-Lamy	<i>N-Ac-galactosamina sulfatasa</i>	Dermatán sulfato
VII	Sly	β -Glucuronidasa	Dermatán sulfato Heparán sulfato

de importancia. Los proteoglicanos se degradan separando la parte proteica de los glicosaminoglicanos. Éstos pasan a los lisosomas, necesitando para su digestión la participación de numerosas hidrolasas específicas, sobre todo, exoglicosidasas y sulfatasas, puesto que la degradación ocurre de forma secuencial separando en cada etapa la unidad más exterior de la molécula. Se conocen, al menos, 14 deficiencias enzimáticas hereditarias que dan lugar a problemas de eliminación de mucopolisacáridos (*mucopolisacardosis*, *MPS*), cuya acumulación debido a la incapacidad de catabolizar alguno o algunos de los diferentes glicosaminoglicanos ocasiona el mal funcionamiento de células, órganos y tejidos y la aparición de enfermedades de gravedad variable, desde moderadas a muy graves, muy difíciles de tratar (Tabla 34-2). Las MPS cursan con múltiples y variadas manifestaciones clínicas, cuya característica común es la rigidez articular y otras alteraciones más o menos específicas del síndrome, como las deformaciones óseas de la *mucopolisacardosis de Morquio* o *Maroteaux-Lamy* y la neurodegeneración que caracteriza el *síndrome de San Filippo*.

Es de destacar que la presencia de monosacáridos modificados con acetilaciones, sulfataciones o grupos ácidos no sólo es característica de los glicosaminoglicanos, sino, también, de algunos lípidos complejos muy abundantes en el tejido nervioso, como los cerebrósidos y los gangliósidos (véase el Cap. 6); de ahí, la estrecha relación entre *oligosacardosis*, *esfingolipidosis* (véase el Cap. 15) y *MPS*. Todas ellas son enfermedades lisosomales en las que un mismo defecto genético puede, también, ocasionar alteraciones articulares y cerebrales relacionadas con la acumulación de gli-

colípidos. Las *MPS* suelen diagnosticarse por el contenido y la proporción de glicosaminoglicanos en la orina. Se heredan en todos los casos de forma autosómica recesiva, excepto el *síndrome de Hunter*, que está ligado al cromosoma X, por defecto de la α -iduronato-sulfatasa.

34.6 INTERACCIÓN ENTRE PROTEÍNAS ESTRUCTURALES Y PROTEOGLICANOS

En el tejido conjuntivo, la interacción entre los dos grandes componentes se produce, tanto por medios mecánicos de adhesión, como mediante reconocimiento específico. Las mecánicas son muy importantes en el cartílago y responden, tanto a atracciones electrostáticas como estéricas. Las electrostáticas aumentan, lógicamente, cuando la densidad de carga en las cadenas de los glicosaminoglicanos es alta, principalmente, por interacción entre los restos sulfato de los condroitinsulfatos con los restos ε-amino de la lisina y la hidroxilisina en el colágeno. Las interacciones estéricas se basan en la disposición en paralelo entre las cadenas peptídicas de los proteoglicanos y las fibras de colágeno y en otra disposición minoritaria en perpendicular con proteoglicanos de alta afinidad, que unen fibras de colágeno contenido moléculas de colágeno de otros tipos, cuando las distancias son demasiado grandes para la formación de enlaces cruzados.

En las interacciones específicas intervienen muchas familias de proteínas y algunas sólo son parcialmente conocidas. Por ejemplo, los condroitinsulfatos interaccionan con el colágeno en el cartílago, pero los queratán sulfatos no lo

hacen, sin que se sepa la causa. Esto puede tener relación con el hecho de que las fibras de colágeno de la superficie del cartílago están apretadas y son ricas en condroitinsulfatos, mientras que, en el interior, las fibras están más espaciadas y tienen mayor riqueza en queratán sulfatos. Lo interesante es que las variaciones en la composición, tanto durante el desarrollo, como en la localización, hacen que estas interacciones específicas remodelen el tejido. En estas interacciones intervienen otros componentes proteicos que sustentan y refuerzan las interacciones del colágeno, como la fibronectina y laminina en la matriz extracelular, y las integrinas en las membranas de los fibroblastos y de otras células del tejido o en contacto con el tejido, como las epiteliales.

34.6.1 Fibronectina

Se trata de una glicoproteína dimérica (a través de puentes disulfuro en su C-terminal), con propiedades adhesivas, que participa en la organización de la matriz extracelular y las células del tejido conjuntivo (Fig. 34-11). Presenta zonas de unión con colágeno, heparina y proteínas de la membrana celular (*integrinas*). Estas últimas, a través de unos dominios llamados *repeticiones de tipo III*, que están constituidos por unos 90 aminoácidos y siempre tienen el motivo RGD. Este motivo es esencial en las interacciones de la matriz, y no se encuentra sólo en esta proteína, sino también en otras minoritarias, como la glicoproteína *tenascina*, que se expresa más en tejidos embrionarios y puede actuar tanto con funciones adhesivas como antiadhesivas.

Todas las fibronectinas son codificadas por un único gen, muy grande, con 50 exones, y el recorte alternativo da lugar a muchos ARN diferentes, que codifican isoformas de fibro-

nectina, que cada célula adapta a sus necesidades. Incluso, hay una fibronectina plasmática soluble que puede facilitar procesos como la coagulación o la cicatrización de heridas.

34.6.2 Integrinas

Estas moléculas constituyen una gran familia de proteínas integrales de membrana celular que interaccionan con casi todos los componentes de la matriz extracelular, incluyendo el *colágeno*, la *laminina*, la *fibronectina* y los *proteoglicanos*. De esta forma, constituyen un nexo de unión y continuidad entre las células y la matriz extracelular. Una de las subfamilias reconoce el motivo RGD y otras reconocen otros o necesitan otros componentes para la unión (cationes divalentes, Ca^{2+} o Mg^{2+}). Algunas no quedan ancladas en la membrana, sino que se secretan al medio. Las denominadas $\beta 3$, expresadas en muchas células, como las plaquetas, unen fibrinógeno y participan en la coagulación. Un defecto genético de esta subfamilia ocasiona la *enfermedad de Glanzmann*, cuyos pacientes de caracterizan por hemorragias excesivas.

34.7 TEJIDO CARTILAGINOSO

Los fibroblastos son células poco especializadas y muy versátiles que, en función del medio, pueden diferenciarse no sólo en otras células del tejido conjuntivo, sino también en miocitos musculares o adipocitos grases, especialmente, durante su etapa temprana, en la que se llaman *células mesenquimales*. En el cartílago, determinados factores extracelulares hacen que los fibroblastos se transformen en *condroblastos*, es decir, células que sintetizan y acumulan en el espacio extracelular colágeno de tipo II (en menor proporción, colágeno de tipo IX) y proteoglicanos hasta quedar aisladas, embebidas en la matriz como *condrocitos maduros*.

Además del colágeno de tipo II, las otras estructuras macromoleculares características del cartílago son los *agrecanos*, un tipo de proteoglicano gigante ya comentado; está formado por un polímero de proteoglicanos menores, estructurados a lo largo de una cadena de hialuronato por medio de proteínas enlazantes, sin que existan enlaces covalentes (Fig. 34-10). Esta macroestructura tiene una gran capacidad higroscópica, gracias a las cargas negativas de los glicosaminoglicanos periféricos y del hialuronato, que le permiten envolverse de una gran cantidad de moléculas de agua, hincharse y formar un gel semisólido que facilita el flujo lento de materiales.

La matriz del cartílago se caracteriza por no poseer vasos sanguíneos pero, sin embargo, a través del gel de agrecanos, permite la difusión de los nutrientes necesarios para los condrocitos supervivientes, que deben proliferar para reemplazar

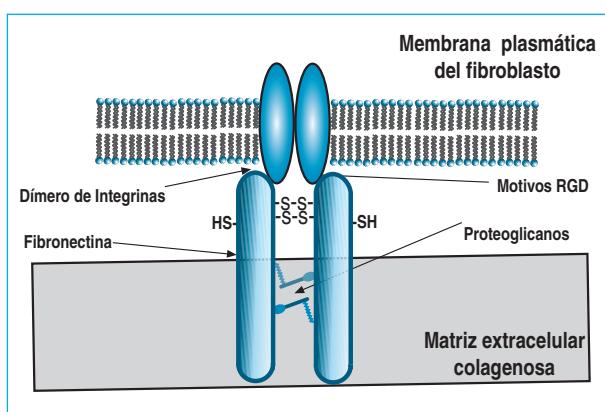


Figura 34-11. Disposición del dímero de fibronectina, que es una de las proteínas que une la matriz extracelular con las integrinas de la membrana de las células del tejido conjuntivo. Obsérvese que otras zonas de la fibronectina interactúan con el colágeno y los proteoglicanos.

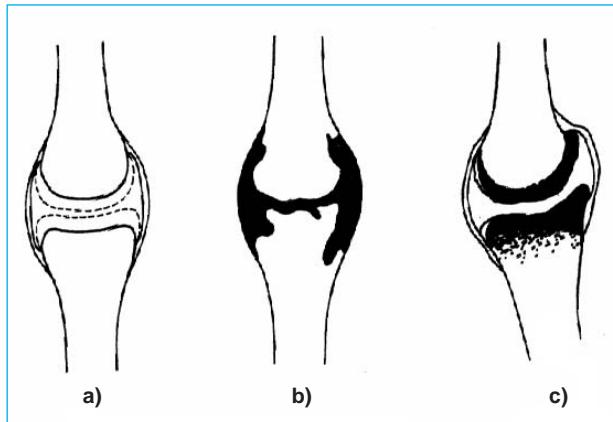


Figura 34-12. Esquema de la disposición del tejido cartilaginoso en las articulaciones de un hueso largo. (a) Articulación normal; (b) Zonas afectadas en la artritis; (c) Zonas afectadas en la artrosis.

materiales y mantener el tejido vivo. El cartílago, a la vez, debe ser duro, deformable y flexible para poder soportar presiones mecánicas sin causar dolor, porque tampoco tiene terminaciones nerviosas. Durante el desarrollo de los huesos largos, la mayor parte del cartílago se va reemplazando por tejido óseo, aunque siempre queda una porción de tejido cartilaginoso en la periferia para facilitar las articulaciones (véase el Cap. 35).

Tanto la *artritis reumatoide*, como la *artrosis* son procesos degenerativos del cartílago de las articulaciones. La diferencia estriba en que la primera cursa como un proceso inflamatorio, en el que la destrucción del hialuronato y los proteoglicanos permite el acceso de macrófagos y linfocitos al espacio sinovial (Fig. 34-12). Estas células producen *colagenasas*, *hialuronidasas* e *hidrolasas* para abrirse camino en la reacción inflamatoria, pero, a la vez, provocan la destrucción de toda la matriz extracelular del cartílago.

En la artrosis se produce una degeneración del cartílago de predisposición hereditaria y ligada a la edad, sin que en su origen haya una inflamación. El comienzo de la destrucción tisular activa la producción de colagenasas que prosiguen el proceso degenerativo.

34.8 ASPECTOS BIOQUÍMICOS DE LA PIEL Y LAS UÑAS

La piel representa en el ser humano el tejido más abundante, aproximadamente el 10% del peso corporal. Es una mult capa que sufre la exposición directa al mundo exterior. Sus funciones son muy variadas y esenciales para la protección del organismo, y su composición, bastante compleja, pues cons

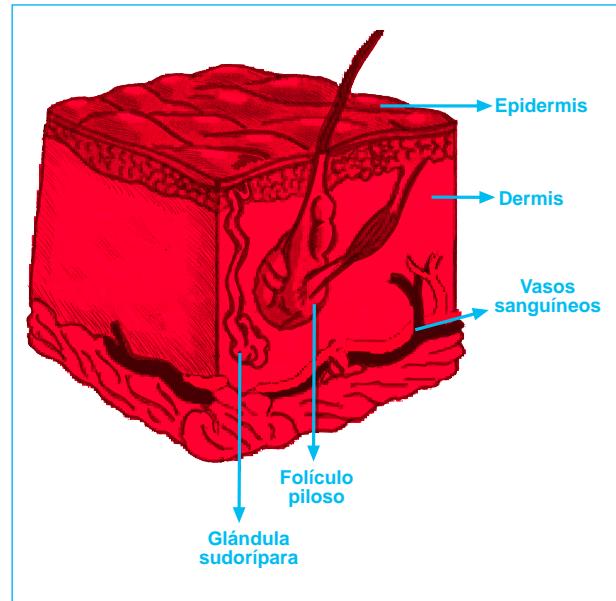


Figura 34-13. Esquema de una sección de la piel. Los queratinocitos se distribuyen entre epidermis y la dermis, mientras que los fibroblastos predominan en el tejido conjuntivo, tras la lámina basal. Los melanocitos se distribuyen mayoritariamente entre la epidermis y la dermis y en los folículos pilosos para transferir la melanina a los queratinocitos circundantes o al pelo.

ta de una epidermis en descamación y regeneración continua de las capas celulares, y un tejido interno de sostén, la dermis, que, además de los queratinocitos, comprende los vasos sanguíneos, vasos linfáticos, nervios, folículos pilosos, glándulas sebáceas, y sudoríparas que se adentra en un tejido conjuntivo dérmico que aglomera esas estructuras (Fig. 34-13).

Los queratinocitos de la epidermis tienen una forma y un aspecto diferente según su situación, desde los basales, más interiores, pasando por capas de queratinocitos espinales, la capa de los granulares y, finalmente, los queratinocitos escamosos muertos, más exteriores, llenos de queratina empaquetada densamente y otra proteína característica de ellos, la *involucrina*.

El metabolismo de la piel es bastante activo, utilizando glucosa y vertiendo grandes cantidades de lactato a la sangre. Las células epidérmicas principales (queratinocitos) sintetizan grandes cantidades de citoquinas y otros factores reguladores, pero estructuralmente, la secreción principal es de α -queratinas, proteínas muy insolubles, tanto para la epidermis, como para estructuras más duras, como la piel y las uñas. La epidermis es también productora de otros compuestos de naturaleza diferente, como el escualeno y el colesterol, que son fuente de 7-deshidrocolesterol mediante la radiación UV, para la síntesis de colecálciferoles, con la participación

del hígado y, finalmente, el riñón (véase el Cap. 35). Situados entre los queratinocitos se encuentran los *melanocitos*, productores de melanina, o pigmento cutáneo, y otros tipos celulares minoritarios.

34.8.1 α -Queratina

Es la proteína principal que forman los queratinocitos, en la epidermis, el pelo y las uñas, además de otros tejidos similares no humanos como la lana y los cuernos. Es la proteína fibrosa modelo de la estructura α -hélice (véase el Cap. 7). No se secreta por un mecanismo de maduración similar al de la pareja fibroblastos/collágeno, sino que se va acumulando a medida que desaparecen las células que la generaron, siguiendo diferentes patrones según su origen celular.

Las α -queratinas corresponden a una familia de proteínas del citoesqueleto celular, los filamentos intermedios, que reciben el nombre de *citoqueratinas* cuando cumplen su función intracelular. Se han descrito, por lo menos, 10 citoqueratinas distintas en la piel, el pelo y las uñas, llamadas *queratinas duras*, y otras 20 en otros epitelios. De hecho, los carcinomas de piel se clasifican en función de la α -queratina que sobreexpresan. Las duras son de dos tipos, las *ácidas* (*tipo I*) y las *neutras/básicas* (*tipo II*), que forman heterodímeros, pero no homodímeros. La razón es que en ambos tipos existen amplias zonas de estructura primaria con secuencias repetitivas de 7 residuos, de los cuales, el primero y el cuarto son hidrofóbicos, mientras que el quinto y el séptimo son polares y de carga opuesta en los dos tipos, lo que produce la atracción electrostática entre cadenas distintas, pero la repulsión entre las del mismo tipo (Fig. 34-14).

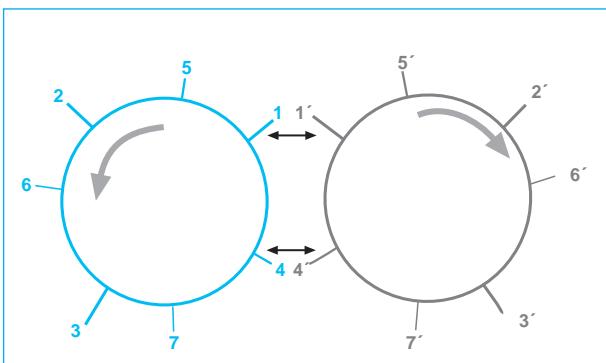


Figura 34-14. Disposición de las cadenas laterales de dos cadenas α -helicoidales de α -queratinas para su interacción lateral hidrofóbica y electrostática. Las posiciones 1 y 4 están ocupadas por residuos hidrofóbicos, mientras que las posiciones 5 y 7 son residuos polares cargados. Los homodímeros tienen la misma carga, lo que induce su repulsión mutua, mientras que los heterodímeros tienen carga opuesta, que se atraen y lo estabilizan.

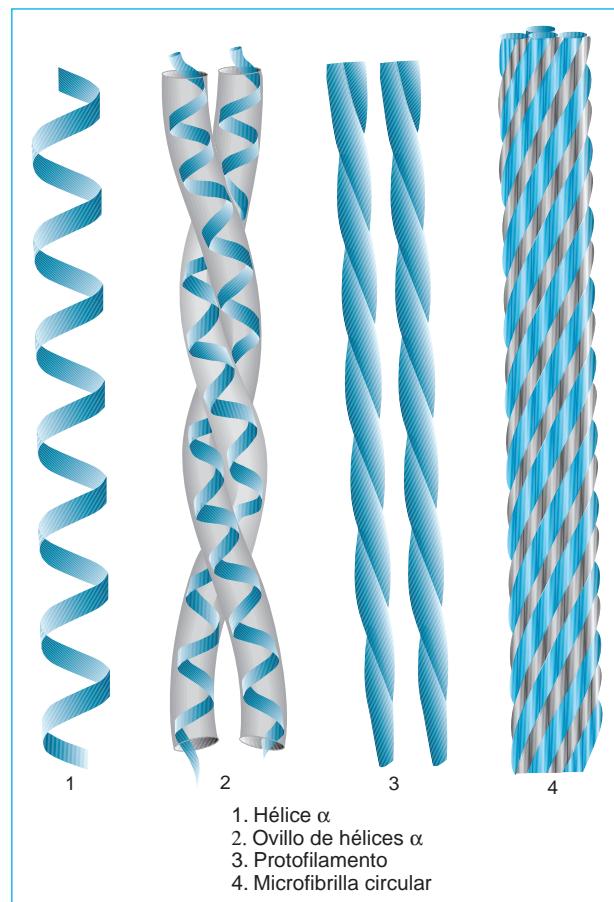


Figura 34-15. Agrupamiento de distintas moléculas α -helicoidales de las α -queratinas hasta formar los filamentos. Las parejas de cadenas α -helicoidales forman los ovillos, y los pares de ovillos forman un protofilamento y éstos se enrollan entre sí, de forma dextrógira para formar los filamentos típicos del cabello y las uñas. Las asociaciones intercatenarias se stabilizan por la formación de puentes disulfuro.

La interacción por caras hidrofóbicas y los bordes polares permiten la formación de trenzado de dos cadenas (ovillos), y nuevo trenzado de 2 ovillos para dar lugar a una *protofibrilla* o *protofilamento*. Los protofilamentos se empaquetan en asociaciones de 8, circulares o cuadradas, para dar estructuras aún más gruesas, de unos 70 Å como mínimo, llamadas *filamentos* o *microfibrillas* (Fig. 34-15). Los filamentos con 32 moléculas de α -queratinas se estabilizan, además, por puentes de hidrógeno, puentes disulfuro y, también, algunos enlaces amídicos entre residuos de Gln y Lys.

Los filamentos de la epidermis tienen menos entrecruzamientos, formando una malla o lámina, pero las del pelo y las uñas pueden contener más puentes disulfuro entrecruzantes en las fibras por su mayor contenido en cisteína. Estos residuos permiten, incluso, la formación de una proteína amorfa

(queratoquialina), especialmente en las uñas, que forma una matriz donde están inmersas las microfibrillas a modo de hormigón armado, donde la queratoquialina es el cemento y las microfibrillas, las varillas metálicas. En cualquier caso, todas las microfibrillas son muy insolubles y permanecen, incluso, cuando muere la célula. Proporcionan una barrera primaria contra la pérdida de agua y calor.

Respecto a las alteraciones patológicas de los queratinocitos y las α -queratinas, la *hiperqueratosis* consiste en la acumulación de células epiteliales muertas como mecanismo de defensa frente a un roce excesivo. Estas células se queratinizan adquiriendo su dureza característica. La formación de los *callos* o *helomas* se inicia normalmente con una hiperqueratosis; a continuación, se forma por debajo una bolsa exudativa, a la que puede seguir un proceso de infección con inflamación del periostio.

La enfermedad humana más conocida relacionada con mutaciones en los genes de las α -queratinas es la *epidermolisis bullosa simple*, que impide la formación de la red de protofilamentos epidérmica y hace a ésta muy sensible al roce mecánico, ampollándose con gran facilidad. Otras alteraciones genéticas en la síntesis o acumulación de α -queratinas pueden conducir a la ausencia completa de la uña (*aniquia*), mientras que una acumulación excesiva de queratina produce una uña con un progresivo aumento de grosor, desde la base hasta el borde libre (*paquionquia*). Otras alteraciones genéticas producen el desprendimiento de la uña de la placa ungual y la pérdida de continuidad con la matriz subyacente (*onicomadesis*), o la separación entre la uña y el lecho (Fig. 34-16), manteniéndose la conexión con la matriz (*onicolisis*).

Hay también una serie de alteraciones en la estructura y coloración de las uñas que están relacionadas con estados patológicos de origen hormonal, nutricional o hepático. Así, por ejemplo, una hipoproteinemia, a menudo ligada a trastornos de origen hepático, suele manifestarse con la aparición

de bandas blanquecinas transversales o de un emblanquecimiento casi global de la uña. Las enfermedades tiroideas pueden dar lugar a onicólisis o a la típica uña en forma de *vidrio de reloj*. Problemas de avitaminosis (sobre todo, carencias de ácido nicotínico, vitamina C o vitamina A) pueden originar las *uñas en garra* y la aparición de fisuras transversales o ranuras longitudinales.

34.8.2 Melanina

La melanina es el pigmento protector presente en la epidermis de cualquier animal, aunque, en realidad, las melaninas se forman en todos los niveles de la escala filogenética, desde bacterias y hongos. Las células productoras del pigmento en los animales son los *melanocitos*, que están rodeados de queratinocitos en la *unidad melanoepidérmica*. La función de la melanina es la de proteger las células cutáneas de la acción de las radiaciones energéticas, esencialmente, los rayos UV, de efecto mutágeno considerable. La melanina se concentra en unos orgánulos subcelulares (*melanosomas*), que migran periféricamente a las prolongaciones dendríticas de los melanocitos y son transferidos mediante endocitosis a los queratinocitos circundantes, de manera que éstos acumulan la melanina. En función de la abundancia, la dispersión, el tamaño y el tipo de los melanosomas transferidos, se producen los distintos tipos de piel y de razas, desde el fototipo I, de tez muy clara y muy sensible a quemaduras solares hasta el fototipo VI, muy protegidos frente a la radiación solar y de raza negra.

La estructura molecular de la melanina es compleja, a base de polímeros fenólicos e indólicos que se construyen a partir del aminoácido tirosina, distinguiéndose entre eumelanina (pieles más oscuras y pelo negro) y feomelanina (pieles claras, pelirrojas o rubios) interviniendo en este último caso, también, otro aminoácido, la cisteína. En la ruta de melanogénesis intervienen, al menos, tres proteínas: *tirosinasa*, y dos proteínas relacionadas, la *TRP2* (*dopacromo tautomerasa*) y la *TRP1* (*oxidasa del ácido 5,6-dihidroxi-indolcarboxílico*) (Fig. 34-17). La enzima clave es la *tirosinasa*, que cataliza en dos pasos sucesivos la oxidación de tirosina hasta o-dopaquinona. Este metabolito es el primer punto de bifurcación de la ruta, que conduce a eumelaninas, por una ciclación interna, o a feomelaninas, si se adiciona un compuesto tiólico, bien, cisteína, o bien glutatión. La ruta eumelánica muestra un segundo punto de bifurcación a nivel de dopacromo que, según los niveles de la enzima *dopacromo tautomerasa*, conduce a polímeros indólicos con un mayor número de unidades carboxiladas y de color marrón/castaño o a polímeros con unidades descarboxiladas de color negro. La ausencia total de melanina por mutaciones en la *tirosinasa* u otras proteínas del melanocito produce el *albinismo*, mien-

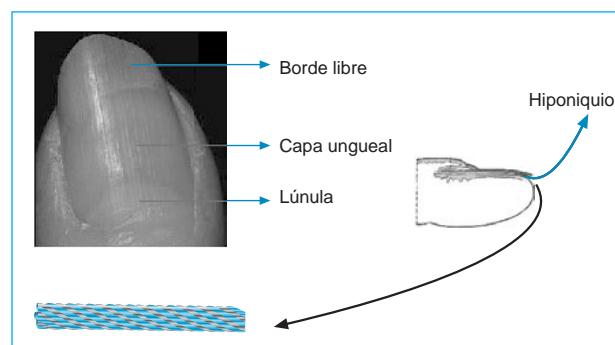


Figura 34-16. Esquema de la uña con la capa ungual y detalle de los filamentos formados por asociaciones de 4 protofilamentos de α -queratina en el borde del hipoquionio.

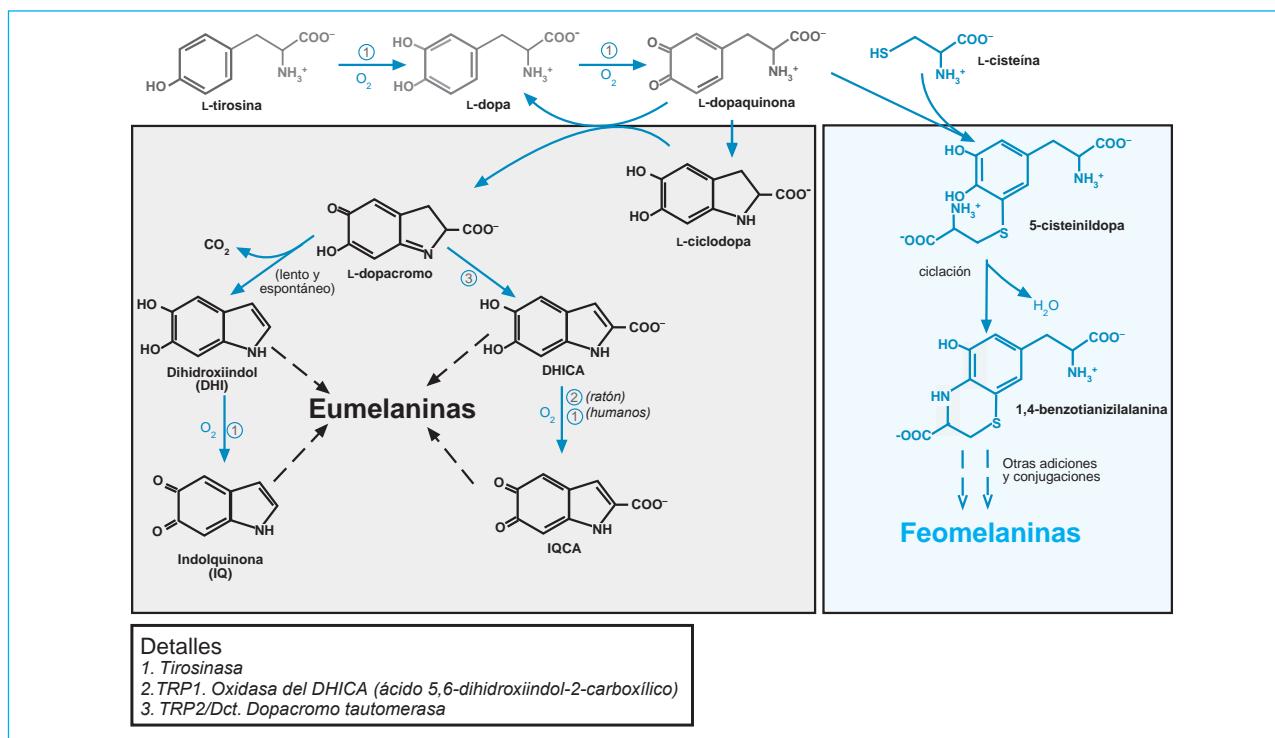


Figura 34-17. Biosíntesis de la melanina. La tirosina se transforma en dopaquinona, que es el punto de bifurcación entre las eumelaninas, muy oscuras y las feomelaninas, más claras, que contienen azufre. Las eumelaninas se forman por polimerización de indoles carboxilados y descarboxilados, según el nivel de actividad tautomerasa sobre dopacromo.

tras que la muerte prematura de melanocitos en zonas más o menos extensas de la piel conduce al **vitílico**.

Los melanocitos están también presentes en los bulbos pilosos, transfiriendo melanina al pelo, y en partes de ciertos sentidos, como el epitelio retiniano del ojo y la cóclea del oído interno (véase el Cap. 33). Aunque los melanocitos tie-

nén esa función protectora, su malignización da lugar al tipo de tumores más mortíferos de la piel, los *melanomas*, y su poca actividad, ausencia o muerte produce estados de hipopigmentación que, en algunos casos, no tienen trascendencia (como las canas) y en otros, pueden ser causa de enfermedades cutáneas y de la visión (Recuadro 34-3).

Recuadro 34-3.**LA MELANINA Y LAS ENFERMEDADES OCULOEPIDÉRMICAS**

La melanina es un pigmento con funciones protectoras, tanto frente a la radiación lumínosa como frente al estrés oxidativo que se produce en algunos tejidos como consecuencia del metabolismo aerobio. Por otra parte, los melanocitos son células de origen neuroectodérmico que proceden de la cresta neural y mantienen ciertas relaciones con las neuronas. Por ello, problemas con el desarrollo de los melanocitos causan una serie de enfermedades que llevan una hipopigmentación y una falta de fotoprotección, pero en muchos casos, los síntomas no acaban ahí, sino que afectan al buen funcionamiento de los sentidos, especialmente, la visión y el sistema nervioso.

El trastorno de mayor incidencia es el *albinismo* (véase el Cap. 16), que puede ser de dos tipos. El oculocutáneo (OCA) y el sólo ocular (OA), este último, ligado al cromosoma X. Existen varios OCA, pero el debido a mutaciones inactivantes de la enzima *tirosinasa*, el OCA1, produce intensa fotofobia y nistagmo debido no sólo a la falta del pigmento melanina, sino también a un cruce anormal del tracto ocular y a la falta de desarrollo de la fóvea, el sitio de mejor visión. El OCA3 tiene afectada la enzima melanogénica TRP1, y también ocasiona nistagmo, pero no causa ausencia total de pigmento, sino sólo disminución. En el OA se produce hipoplasia foveal y alteraciones en la ruta del tracto óptico. La función de la proteína afectada por esta mutación es desconocida, pero parece ser un transportador que mantiene un gradiente protónico entre el melanosoma y el citoplasma del melanocito.

Los síndromes de *Hermansky-Pudlak* y *Chediak-Higashi* son dos tipos de síndromes fenotípicamente semejantes al OCA. El primero es autosómico recesivo con pigmentación cutánea variable, pero que afecta a las membranas plaquetarias y a los depósitos de cera. El segundo es aún menos conocido. En ambos casos, las mutaciones se producen en proteínas no enzimáticas del melanocito, de forma que la disminución o ausencia de melaninas no es debida a alteraciones en la ruta melanogénica, sino en el desarrollo y funcionamiento del melanocito.

El síndrome de *Prader-Willi* y el síndrome de *Angelman* son bastante raros. Ambos producen hipopigmentación acompañada de nistagmo y un desarrollo anómalo del sistema óptico, en general, pero, también, sordera y problemas neurológicos con retraso mental de moderado a grave.

La más común de las enfermedades hereditarias relacionadas con la melanina afecta al ojo y es la *retinitis pigmentosa* (RP), un grupo heterogéneo de enfermedades con una prevalencia de 1:3500. Se puede transmitir como defecto autosómico dominante (*adRP*), recesivo (*arRP*) y ligado al cromosoma X (*xLRP*). La más común, con diferencia, es la *arRP*. La enfermedad está causada por una degeneración progresiva e irreversible de los bastones y, en menor extensión, de los conos, que son digeridos por el epitelio retiniano, dando lugar a una fuerte pigmentación en el complejo marco de interacciones moleculares entre la retina y dicho epitelio (véase el Cap. 33). El proceso afecta primero a la periferia pero se extiende lentamente a la región central de la retina. El descenso en el número de células fotorreceptoras está acompañado de la pérdida de riego sanguíneo en la retina, produciendo ceguera nocturna y después, total.

En el desarrollo y la formación de los bastones están implicados genes de los cromosomas X, 1, 3, 6, 7 y 8. En el X parecen existir dos genes en el brazo corto, de función poco conocida. Las alteraciones en el gen que codifica la rodopsina, situado en el cromosoma 3, representa, aproximadamente, un 25% de los pacientes con retinitis pigmentosa.

El análisis genético de la *arRP*, o retinitis pigmentosa recesiva, está comenzando a ofrecer datos. Ya se han descrito, por ejemplo, mutaciones en el gen de la opsina, como el cambio GAG por TAG en el codón 249, que produce una opsina sin los dos últimos fragmentos transmembrana. Los homocigóticos tienen ceguera nocturna desde el nacimiento, y los heterocigóticos son normales. Algo semejante ocurre en la mutación del codón 150, que cambia GAG (E) por AAG (K). Otros genes afectados codifican la subunidad β de la fosfodiesterasa de GMPc.

Finalmente, la *degeneración macular por envejecimiento* (AMD) es la principal causa de ceguera progresiva en el mundo occidental. Se debe a una acumulación de lipofuscinas (polímeros lipídicos unidos a melanina) en el citoplasma de los melanocitos y otras células del epitelio retiniano del ojo, lo que afecta al funcionamiento celular. El mal funcionamiento del ERP provoca la muerte de las células fotorreceptoras, tanto conos como bastones (véase el Cap. 33). El riesgo de AMD es 40 veces mayor en las personas blancas que en las negras porque las lipofuscinas son más abundantes en la raza blanca, aunque el contenido en melanina es inversamente proporcional a la incidencia de AMD. Esto prueba que lo que da origen a la enfermedad no es la fracción melánica de las lipofuscinas sino la lipídica.

RESUMEN

- El tejido conjuntivo es un sistema heterogéneo de células, principalmente, fibroblastos, embebidos en una matriz extracelular formada por componentes que sintetizan y secretan dichas células. Esos componentes son proteínas estructurales (colágeno y elastina), pequeñas cantidades de proteínas adhesivas (fibrilina, fibronectina y laminina), y grandes cantidades de proteoglicanos. La matriz no sólo embebe las células, sino que regula su actividad y comportamiento.
- Existen 3 clases principales de colágeno, el formador de fibras (tipos I, II, III, V y XI), el que se asocia a las fibras para unir unas con otras de diferente capa o estructura (IX y XII) y el que forma mallas para dar lugar a la lámina basal (tipo IV y VII). En todos los casos, la unidad estructural es el tropocolágeno, un trímero.
- La maduración del colágeno es un proceso multifásico con intervención de numerosas enzimas que llevan a cabo modificaciones postraduccionales de importancia y cuyas alteraciones causan diferentes enfermedades. El colágeno laminar interacciona con el perlecano, la laminina y la entactina, mientras que los fibrosos forman enlaces entrecruzantes entre trímeros. Algunas fibras colagenosas tienen propiedades muy específicas, como la transparencia corneal, aunque esta propiedad de transparencia puede conseguirse con otras estructuras, tanto celulares como proteicas, caso del cristalino, que posee cristalinas.
- Otra proteína del tejido conjuntivo muy semejante al colágeno es la elastina, que no es fibrosa en estado relajado, pero tiene una gran capacidad para extenderse, en respuesta a la tracción mecánica debido a sus residuos de desmosina e isodesmosina, formados a partir de lisina y lisinal.
- La fibronectina y la laminina son glicoproteínas de la matriz, que organizan la estructura del tejido y participan en su organización. Las integrinas son heterodímeros transmembrana, las principales proteínas que utilizan las células animales para unirse a la fibronectina y la laminina de la matriz extracelular y comunicar estas interacciones con el citoesqueleto. De esta forma, constituyen un nexo de unión y continuidad entre las células y la matriz extracelular.
- Los glicosaminoglicanos son cadenas polisacáridicas lineales, formadas por repetición de un disacárido que contiene un ácido urónico y un aminoazúcar acetilado. Puede y suele estar sulfatado, lo que aumenta su carga negativa. Se une a una proteína núcleo, formando proteoglicanos. Éstos ocupan la mayor parte del volumen extracelular, por su gran capacidad de hincharse al retener agua, pero, también, existen con funciones reguladoras en las membranas celulares, participando en la respuesta a factores de crecimiento. Su degradación es lisosomal, difícil y da lugar a enfermedades congénitas de difícil tratamiento, como las mucopolisacaridosis.
- En el cartílago, los condroblastos sintetizan colágeno de tipos II y IX, y agrecanos. Esta macroestructura es muy higroscópica, se hincha y forma una matriz dura y flexible, no vascularizada ni inervada, que va quedando en la periferia de los huesos para facilitar las articulaciones. Su degeneración produce artritis reumatoide y artrosis, según su mecanismo.
- Otros tejidos relacionados con el conjuntivo son la piel y las uñas. La piel representa, aproximadamente, el 10% del peso corporal y sus funciones son esenciales para el organismo. Las células epidérmicas principales son los queratinocitos, que sintetizan proteínas muy insolubles, las α -queratinas. Existen varios tipos de queratinas duras distintas en la piel, el pelo y las uñas. Forman protofilamentos, o protofibrillas trenzado de la cadena helicoidal entre sí, y, luego, estructuras aún más gruesas, los filamentos o microfibrillas. Las de la epidermis tienen menos entrecruzamientos, y las del pelo y las uñas tienen más cisteína y puentes disulfuro. Las alteraciones producen hiperqueratosis y epidermolisis bullosa simple. En las extremidades son frecuentes los callos o helomas, así como alteraciones de la uña, desde ausencia total, aniquia, a paquioniquia, onicomadesis y onicólisis.
- De gran interés es la melanina, el pigmento formado por los melanocitos, con funciones protectoras frente a los rayos UV y radicales libres. Está presente en la epidermis y algunos órganos sensoriales. La melanina es un polímero fenólico complejo en cuya síntesis es protagonista la enzima tirosinasa. Las diferencias en la calidad o cantidad de melanina da lugar a los distintos tipos de piel y de razas, y su ausencia total produce albinismo.

EVALUACIÓN

1. (A). Sobre las modificaciones postraduccionales del colágeno, NO es cierto:
 - a. Que intervenga la vitamina C.
 - b. Que se hidroxilen residuos de prolina y de lisina.
 - c. Que las cadenas de procolágeno se segreguen del fibroblasto de forma individual.
 - d. Que actúen endopeptidasas que liberan péptidos de los extremos de las cadenas de procolágeno.
 - e. Que actúe una lisil oxidasa que desamina algunos residuos de lisina.

a b c d e

2. (B). Sobre los tipos de colágeno:
 1. El tipo mayoritario, sobre todo los I, II y III, es el formador de las fibras.
 2. El colágeno del tipo IV y VII forma mallas en la lámina basal.
 3. El colágeno IX y XII es el asociado a fibras.
 4. En todos los casos, la unidad es siempre trimérica, aunque las cadenas pueden mostrar diferencias.

a b c d e

3. (B). Relación entre los tipos de colágeno y las alteraciones patológicas:
 1. La osteogénesis imperfecta se produce por alteraciones en el colágeno de tipo I.
 2. Las condrodisplasias se producen por alteraciones en el colágeno de tipo III.
 3. El síndrome de Ehlers-Danlos se produce por alteraciones en el colágeno de tipo III.
 4. El latirismo se debe a alteraciones en el colágeno de tipo IX.

a b c d e

4. (A). La elastina:
 - a. Es una proteína fibrosa presente sólo en el cartílago.
 - b. Es muy rica en hidroxiprolina, al igual que el colágeno.
 - c. No es una proteína sustrato de la lisil oxidasa.
 - d. Su riqueza en glicina y alanita es baja.
 - e. Todo lo anterior es falso.

a b c d e

5. (C). El tetrasacárido Xil-Gal-Gal-Glucurónico es el puente que une los glicosaminoglicanos con la cadena polipeptídica de los proteoglicanos PORQUE este tetrasacárido es el único que puede formar enlaces glicosídicos con el hidroxilo de la serina.

a b c d e

6. (A). No es un proteoglicano:
 - a. La decorina.
 - b. El perlecano.
 - c. El agrecano.
 - d. La hialadherina.
 - e. El betaglicano.

7. (B). Son mucopolisacaridosis (MPS):
 1. El síndrome de Hunter.
 2. El síndrome de Morquio.
 3. El síndrome de San Filippo.
 4. El síndrome de Marfan.

a b c d e

8. (C). La fibronectina de la matriz extracelular interacciona con las integrinas de las membranas celulares de los fibroblastos PORQUE las primeras contienen en su molécula repeticiones de tipo III con el tripeptido RGD.

a b c d e

9. (A). El tejido cartilaginoso:
 - a. No contiene colágeno.
 - b. Está más vascularizado e inervado que el hueso.
 - c. Contiene agrecanos, los proteoglicanos gigantes.
 - d. Contiene osteoclastos que lo modelan continuamente.
 - e. Es menos higroscópico que el tejido óseo.

10. (A). La anoniquia es:
 - a. Ausencia de uñas.
 - b. Ausencia de pelo.
 - c. Ausencia de queratinocitos escamosos en la piel.
 - d. Ausencia de cualquier tipo de queratinas.
 - e. Aumento en el grosor de las uñas desde la base hasta el borde.

11. (B). Participan en la síntesis de feomelaninas:
 1. Tirosinasa.
 2. Dopacromo tautomerasa.
 3. Cistéfna.
 4. Vitamina D.

a b c d e

12. (A). No interviene en los procesos bioquímicos de maduración del colágeno:
 - a. Prolina hidroxilasa.
 - b. Glicosil transferasa.
 - c. Lisina hidroxilasa.
 - d. Glicina oxidasa.
 - e. Lisina oxidasa.

13. (A). Conectivopatías y miopatías:
 - a. Las conectivopatías se refieren a enfermedades propias de la placa motora.
 - b. Las conectivopatías se clasifican en distrofias musculares y distrofias tónicas.
 - c. Las miopatías ocasionan una musculatura poco desarrollada.
 - d. Hasta ahora sólo se conocen miopatías, pero no conectivopatías.
 - e. En total se han descrito entre 5 y 10 defectos hereditarios de este tipo.

EVALUACIÓN (continuación)

14. (A). La alteración del gen codificador de la fibrilina causa el síndrome de:
- Cutis seco.
 - Marfan.
 - Hunter.
 - San Filippo.
 - Ehler-Danlos.
15. (A). Síndrome de Ehler-Danlos. No es cierto que:
- Sea común en los denominados «hombres-goma» en los circos.
 - Lo sufriera el violinista Paganini, lo que le confería una extraordinaria movilidad en las articulaciones de sus muñecas.
 - Se diagnostica mediante las maniobras conocidas como de Wynne-Davies.
16. (B). Constituyentes de los polisacáridos:
- El ácido hialurónico está formado por ácido D-glucurónico y N-acetil-2-D-glucosamina, unidos por enlaces glicosídicos de tipo α .
 - El ácido hialurónico está formado por ácido D-glucurónico y N-acetil-2-D-glucosamina, unidos por enlaces glicosídicos de tipo β .
 - El sulfato de condroitina está formado por ácido D-galacturónico y N-acetil-2-D-glucosamina, unidos por enlaces glicosídicos de tipo β .
 - Los sulfatos de condroitina A y C se diferencian en la posición de los grupos sulfónicos que esterifican.
- a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Belting M: Heparan sulfate proteoglycan as a plasma membrane carrier. *TiBS* 2003; 28: 145-151.
- González JM y Medina JM: *Patología Molecular*. Cap. 18, pp. 309-340. Ed. McGraw-Hill/Interamericana, 2001.
- Hardingham TE, Fosang AJ: Proteoglycans. Many forms and many functions. *FASEB J* 1992; 6: 861-870.
- Hay ED eds: *Cell Biology and Extracellular Matrix*, 2nd ed., Plenum Press, 1991. New York.
- Kucharz EJ: *The collagens. Biochemistry and Pathophysiology*. Springer-Verlag, 1992, New York.
- Smith CUM: *Biology of sensory systems*. J. Wiley & Sons 2000, Chichester, Reino Unido.

35.1 INTRODUCCIÓN

En la naturaleza existen muchos organismos con tejidos mineralizados o duros, formados por una fase inorgánica mineral y ciertos componentes orgánicos. Los más evidentes son los que tienen concha o exoesqueleto, como moluscos, lamelibranquios o artrópodos, etcétera. Aunque algunos animales marinos utilizan silicio o estroncio, la *mineralización* se produce casi siempre con participación de calcio, por lo que se denomina *calcificación*. Éste es el caso de los vertebrados, en los que existen dos tejidos calcificados principales, el *hueso* y el *diente*. A su vez, dentro del diente aparecen tres tipos de calcificaciones distintas, que dan lugar al *cemento*, la *dentina* y el *esmalte* (Fig. 35-1).

35.2 HUESO, CEMENTO, DENTINA Y ESMALTE

Los *huesos* forman el esqueleto, soporte mecánico y articulado del cuerpo, que permite la fijación de los músculos y capta el movimiento de las extremidades o las mandíbulas. El *cemento*, muy parecido al hueso, reviste las raíces del diente y lo fija a las fibras de colágeno no calcificadas que existen en el ligamento periodontal, anclando el diente a la mandíbula. La *dentina* constituye la mayor parte del diente y su composición es, también, muy similar a la del hueso. Sirve de soporte mecánico y cojín elástico para el esmalte que lo cubre. El *esmalte* es un tejido más duro y mineralizado que los anteriores. Su dureza es de 6.5 en la escala de Mohs, intermedia entre la ortosa (6) y el cuarzo (7). A pesar de su dureza, es elástico y no quebradizo, lo que permite su impacto con el diente opuesto durante la masticación, sin apenas deterioro. Su capacidad de tracción es de 430 kg.mm^{-2} , y su cristalinidad es doble que la del hueso. Su espesor es mayor en la corona que en los laterales.

Estos tejidos tienen un origen mesodérmico común. Se forman a partir de fibrillas de colágeno y otras proteínas secretadas por células especializadas llamadas, respectivamente, *osteoblastos*, *cementoblastos* y *odontoblastos*, situadas en el límite de desarrollo del correspondiente tejido. Antes de calcificarse, la red fibrilar constituye el *tejido osteode* o la *predentina*, según sea precursora de hueso o diente,

respectivamente. A continuación, aparecen cristales de fosfato cálcico, o apatito, que crecen rápidamente y rellenan los espacios interfibrilares. En el hueso, los osteoblastos quedan embebidos en cavidades e interconectados por canalículos con prolongaciones dendríticas, pasando a denominarse *osteocitos*. En la dentina, los odontoblastos se transforman en *odontocitos* maduros mientras se alejan hacia la unión esmal todental, dejando hacia la dentina calcificada las prolongaciones dendríticas. La formación y la mineralización del esmalte se comentan más adelante.

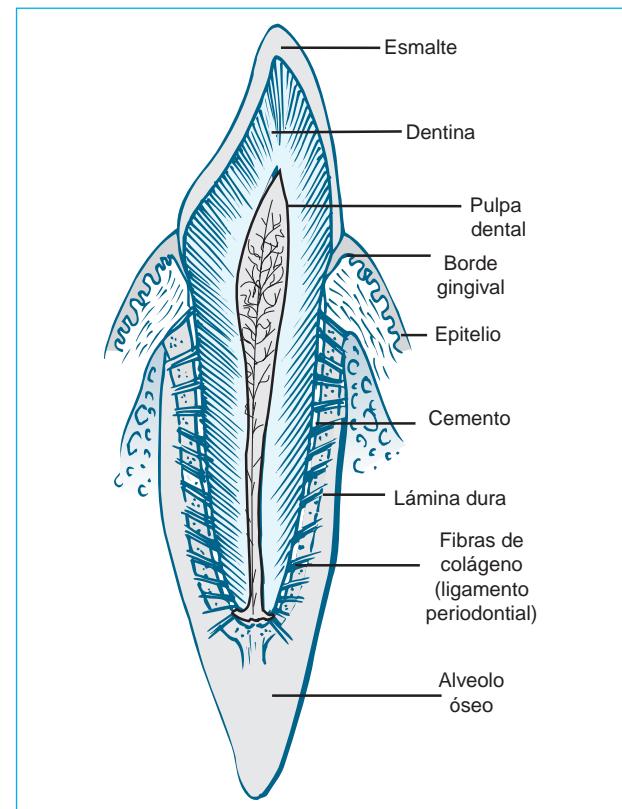


Figura 35-1. Sección de un incisivo, mostrando las diferentes partes calcificadas del diente y la pulpa interior con odontocitos, que se ramifican hasta la dentina. El esmalte está en la corona exterior, sigue la dentina y después, el cemento, de composición muy semejante al hueso y que une el diente con el alveolo óseo, a través de ligamentos colagenosos.

Estos tejidos no son inertes, principalmente el hueso, sino que existe un metabolismo continuo de formación y disolución de la matriz mineral. La degradación de la matriz ósea ya formada la llevan a cabo los *osteoclastos*, que son células multinucleadas derivadas de macrófagos monocíticos. Su actividad relaciona el esqueleto con el calcio iónico soluble, de modo que el primero es una reserva del segundo. Disuelven el hueso mediante una secreción masiva ácida, con abundantes proteasas específicas que degradan la matriz. El reemplazamiento y remodelado del tejido dental es mucho menos activo, lo que explica que en los adultos pueda soldarse una fractura ósea, pero no pueda reemplazarse una pieza dental.

De los iones que participan en la formación de los tejidos minerales, los principales son el calcio y el fosfato, cuyo metabolismo se trata a continuación.

35.3 CONTENIDO DE CALCIO Y FÓSFORO EN EL ORGANISMO

Después del carbono, el oxígeno, el hidrógeno y el nitrógeno, el calcio y el fósforo son los dos elementos más abundantes en el ser humano. Una persona de 70 kg tiene unos 1150 g de Ca y 700 g de P. Aunque la mayor proporción se encuentra asociada a los tejidos calcificados, las fases solubles de los dos elementos son esenciales en el metabolismo. Así, el 99% del calcio se encuentra en los huesos y dientes, pero el 1% restante regula gran cantidad de procesos enzimáticos, metabólicos y fisiológicos, como es el caso de las proteína quinasas, la contracción muscular, la neurotransmisión o la coagulación sanguínea, entre otros.

La mayor parte del calcio soluble es extracelular y se encuentra en el plasma, en tres formas interconvertibles que están en equilibrio (concentración total 2.5 ± 0.2 mM):

1. *Calcio iónico libre y dializable*: constituye el 50% del total (Ca^{2+}).
2. *Calcio en forma de complejos, pero dializable*: aproximadamente, el 10%, formando complejos mixtos con aniones inorgánicos, como el citrato, el fosfato, el bicarbonato, etcétera.
3. *Calcio unido a proteínas*: el 40% restante, unido, principalmente, a la albúmina y las globulinas séricas.

Respecto al fósforo, se presenta casi exclusivamente como ion fosfato, un 85% en tejidos duros y el resto, casi por completo en el medio intracelular. Forma parte de enlaces de reserva energética (ATP), ácidos nucleicos o fosfolípidos y regula una gran cantidad de procesos metabólicos, al formar parte del AMPc, intervenir en la fosforilación de las proteínas, etcétera. La concentración plasmática de fosfato es menos constante, oscilando entre 1.2 g/L y 2.4 g/L (en niños). El fosfato se encuentra en dos formas:

1. *Fosfato libre iónico*: constituye el 5-10% del total, lo que representa de 1 a 1.5 mM en adultos y hasta 2.5 mM en niños.
2. *Fosfato esterificado*: Fundamentalmente intracelular, bien en fosfolípidos de membrana o bien, formando parte de fosfoazúcares y nucleótidos.

La excreción principal de ambos elementos se realiza por las heces, debido a una absorción incompleta de su contenido en la dieta. También se eliminan pequeñas cantidades a través del sudor y la orina, bajo control hormonal. Diariamente, la excreción de calcio es de unos 200 mg, mientras la de fosfato es más variable.

35.3.1 La vitamina D y la absorción del calcio

La *vitamina D* estimula la absorción intestinal del Ca^{2+} . Su deficiencia causa raquitismo, enfermedad caracterizada por la deformación e hipocalcificación óseas. La acción estimulante no se ejerce por la vitamina D directamente, sino por metabolitos derivados de ella. El más activo es el *1,25-dihidroxcolecalciferol (DHCC)*, que se forma por la acción conjunta de la piel, el hígado y el riñón (Fig. 35-2). La *hidroxilasa hepática* hidroxila la posición 25, es mitocondrial y no está sujeta a regulación, de manera que su actividad es proporcional al colecalciferol que llega al hígado. La enzima principal en esa síntesis es la *HCC-hidroxilasa renal*, que hidroxila la posición 1 del intermedio 25-hidroxcolecalciferol, en situaciones normales y de hipocalcemia. Está muy bien regulada por los niveles de la parathormona (PTH). Sin embargo, en caso de hipercalcemia, la misma enzima hidroxila en posición 24, dando lugar al isómero *24,25-DHCC*, un compuesto menos activo en la estimulación de la absorción intestinal y que permite una mayor excreción urinaria. Se postula la existencia de pequeñas variantes a este modelo general, habiéndose encontrado cantidades reducidas de DHCC hidroxilados en las posiciones 23 y 26, así como un THCC hidroxilado en las posiciones 1,24 y 25. Todos estos son compuestos menos activos que el 1,25-DHCC.

El 1,25-DHCC se une con gran afinidad a los receptores nucleares específicos de este compuesto, que modifican la expresión génica de las células que los poseen. El gen cuya transcripción más se activa codifica a la *proteína transportadora de calcio (CaBP)* en las células del endotelio intestinal. Esta proteína se incorpora a la membrana de las células orientadas hacia el lumen intestinal, activando la captación de Ca^{2+} . El 1,25-DHCC también actúa sobre las células de los túbulos renales aumentando la reabsorción del calcio para disminuir su excreción. Cantidades de 1,25-DHCC por encima de las fisiológicas pueden producir efectos opuestos, como sería la disolución del hueso y la aparición de cálculos renales.

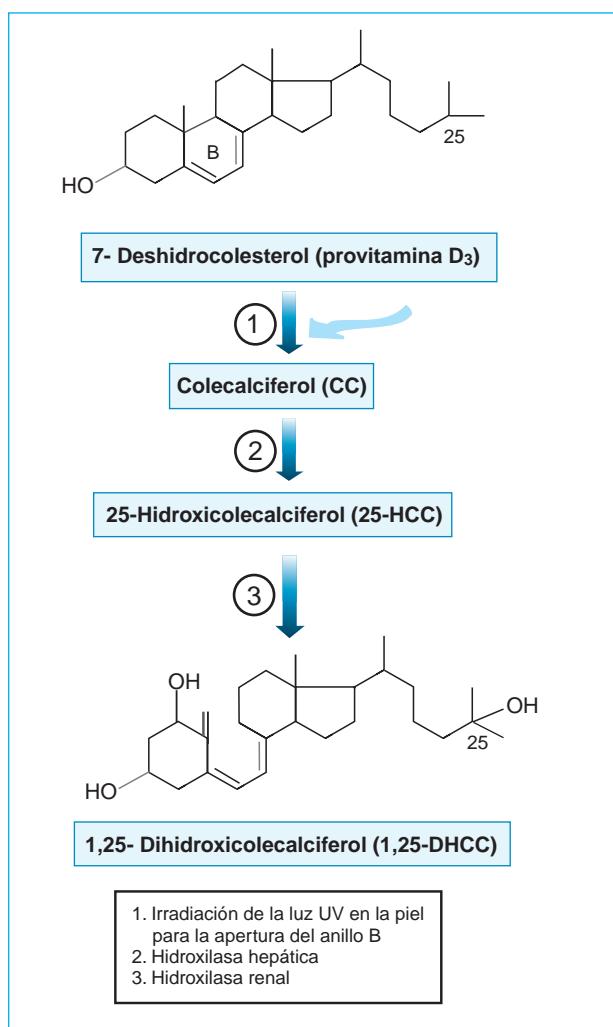


Figura 35-2. Esquema de la biosíntesis del colecalciferol más activo, 1,25-DHCC, a partir de la provitamina D₃. Obsérvese la intervención secuencial de la piel, el hígado y el riñón. Los altos niveles de Ca²⁺ inducen la hidroxilación renal del 25-HCC en otras posiciones, para dar compuestos menos activos, como el 24,25-DHCC.

35.3.2 Regulación de los niveles plasmáticos de calcio y fósforo

La concentración del calcio en la sangre y los fluidos biológicos debe mantenerse en niveles casi constantes. Para ello existen mecanismos de regulación hormonal u homeostasis muy precisos. Éstos se basan en el depósito o la movilización del Ca²⁺ desde el tejido óseo, mediante células especializadas que activan el depósito (*osteoblastos*) o la reabsorción del ion (*osteoclastos*).

Existen dos hormonas reguladoras generales, la *parathormona* (PTH) y la *calcitonina*. En el caso concreto de la erupción dental, proceso poco conocido, intervienen otros factores específicos que conjugan el crecimiento de la pieza ósea con la actividad osteoclástica del alveolo óseo. Entre ellos, destaca la proteína relacionada con la PTH (PTHRP) (Recuadro 35-1).

Los efectos de la PTH y la calcitonina son casi opuestos, y su secreción está regulada por el nivel de calcio plasmático. Sus características principales son:

1. *PTH*. Es un polipéptido formado en las glándulas *paratiroides* que aumenta el nivel de Ca²⁺ plasmático, mediante la estimulación de la proliferación de osteoclastos y la reabsorción ósea. Su secreción está en relación inversa con el nivel de Ca²⁺. No afecta al nivel de fosfato porque también actúa sobre las células de los túbulos renales, inhibiendo la reabsorción de fosfato y activando la del calcio. Requiere vitamina D para su acción osteoclástica, por lo que la PTH es ineficaz en casos de raquitismo.
2. *Calcitonina*. Es un polipéptido formado en las *células C*, situadas fundamentalmente en el *tiroídes*, aunque también existen en las *paratiroides* y el *timo*. Disminuye el nivel de Ca²⁺, inhibiendo la acción osteoclástica, aunque no estimula el depósito óseo. Dicha acción, también, requiere vitamina D. Su secreción se estimula en situaciones de hipercalcemia. La Tabla 35-1 resume los

Tabla 35-1. Resumen de los mecanismos de homeostasis del calcio y el fósforo

Agente	Absorción intestinal	Reabsorción renal	Actividad osteoclástica	Sube su nivel en caso de	Efecto global
PTH	+++	Ca ²⁺ Fosfato	++ -	+++	Hipocalcemia
Calcitonina	Sin efecto	Fosfato	++	-	Hipercalcemia
1,25-DHCC	+++	Ca ²⁺ Fosfato	++ +++	+++	Hipocalcemia

Recuadro 35-1.**EL MECANISMO DE LA ERUPCIÓN DENTAL**

El proceso de erupción dental en los mamíferos es un ejemplo de control de dos procesos relacionados, pero contrapuestos: la formación y la reabsorción óseas. Cuando una pieza dental aflora a la cavidad oral, está encapsulada por un tejido óseo denso que es reabsorbido gradualmente. La ruta de erupción del diente viene determinada por la actividad osteoclástica máxima sobre la corona dental.

El proceso requiere la acción de una proteína relacionada con la parahormona (*PTHrP*), que se regula con el ciclo celular y cuya presencia induce la diferenciación celular en osteoclastos. Esta proteína se localiza en el núcleo, tiene cierta homología con la PTH en la región amino terminal (8 de los 13 primeros son idénticos) y es un factor hipercalcémico. Se ha demostrado que las células del retículo epitelial estrellado producen, en respuesta a estímulos, como IL-1 α , una cantidad abundante de *PTHrP*, ejerciendo una acción paracrina en células del folículo dental adyacente que inicia la

erupción. Sincrónicamente, las células del folículo mesenquimal dental inducen la expresión del factor de diferenciación de osteoclastos (*ODF*) y expresan el receptor de tipo I de *PTH/PTHrP*.

Se produce también un flujo de monocitos hacia el folículo, que se diferencian en osteoclastos, erosionan el hueso alveolar y marcan la ruta de la erupción dental. El proceso depende de más proteínas y factores poco conocidos. Por ejemplo, la pareja *RANK/RANKL*. El *RANK* es un receptor transmembrana que se expresa en las células hematopoyéticas y el *RANKL*, su ligando, producido por osteoblastos y células estromales que, al unirse, inicia la cascada que diferencia los monocitos hematopoyéticos hasta osteoclastos funcionales.

Para controlar el proceso, las células del folículo mesenquimal dental también inhiben la expresión de la *osteoprotegerina (OPG)*, que se contrapone al *ODF* ya que la *OPG* inhibe el proceso de osteoclastogénesis porque actúa como un antagonista de *RANK*, bloqueando la unión de *RANKL*.

La *PTHrP* no está implicada sólo en la erupción dental, sino en todo el metabolismo óseo. Los ratones *knock-out* en

el gen que la codifica mueren al nacer con un fenotipo condrodistrófico caracterizado por una diferenciación prematura de los condrocitos y una formación ósea acelerada. En estos ratones, el reemplazamiento del gen *PTHrP* por un transgén de *procolágeno II* corrige parcialmente las anomalías esqueléticas letales y genera animales que sobreviven unos 6 meses, aunque presentan condrodistrofia craneal y muestran una *absoluta falta de erupción dental*. El diente comienza normalmente su desarrollo, pero queda incrustado en el entorno del hueso.

En resumen, la *PTHrP*, las hormonas hipercalcémicas, algunas citoquinas, la vitamina D₃, la PTH (hormona paratiroides) y la PGE₂ (prostaglandina E₂) estimulan la osteoclastogénesis por una acción doble, inhiben la producción de *OPG* y estimulan la de *RANKL*. Un mayor conocimiento molecular del sistema *OPG/RANK/RANKL*, regulador de la actividad osteoclástica, puede tener un gran impacto en la biología ósea y permitir nuevos tratamientos para enfermedades, como la osteoporosis que se caracteriza por una reabsorción ósea excesiva.

principales efectos de las hormonas y la vitamina D sobre el metabolismo del calcio y el fosfato. Sin embargo, ninguna de ellas tiene apenas efecto sobre la calcificación dental.

35.4 COMPOSICIÓN DE LOS TEJIDOS CALCIFICADOS

Los componentes principales de la fase mineral y orgánica son, respectivamente, el *apatito* y el *colágeno*. El esmalte es el de mayor contenido mineral, mientras que el hueso, el cemento y la dentina son muy similares (Tabla 35-2). Las proporciones relativas varían ligeramente de unos tejidos a otros, así como con la edad, la dieta, etcétera.

35.4.1 Estructura y propiedades del apatito

El *apatito* es una forma compleja de fosfato cálcico. Los iones de fosfato y de calcio pueden formar diversas sales;

algunas, cristalinas y otras, amorfas (Tabla 35-3). Desde el punto de vista microscópico, el apatito está formado por cristales pequeños con unas dimensiones aproximadas de 5 · 10 · 25 nm, excepto en el esmalte, donde son unas 10 veces más anchos y gruesos (aproximadamente 50 · 50 nm y mucho

Tabla 35-2. Composición de los tejidos calcificados (%)

Componente	Hueso	Dentina	Esmalte
Densidad	2.03	2.15	3.05
Agua	8	5	4
Material mineral	70	75	95
Material orgánico	22	20	0.6
Colágeno		18.6	0.35
Otras proteínas	1	0.2	0.2
Otras biomoléculas	2.4	1.8	0.05

Tabla 35-3. Apatitos y otras sales de fosfato cálcico

Sal	Fórmula	Relación Ca/P
Fosfato diácido de calcio	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0.5
Fosfato monoácido de calcio	$\text{Ca}(\text{HPO}_4)$	1.0
Fosfato octocálcico	$\text{Ca}_8(\text{PO}_4)_4 (\text{HPO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1.33
Fosfato tricálcico	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.5
Hidroxiapatito	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1.67
Fluorapatito	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$	1.67

más largos). Los cristales biológicos contienen otros iones, además de calcio y fosfato, como hidroxilo (OH^-) y fluoruro (F^-), por lo que se llaman *hidroxiapatito* y *fluorapatito*. Este último es el mejor modelo para el estudio de la estructura cristalina.

El cristal unidad de fluorapatito está formado por prismas de base hexagonal con un eje longitudinal, c, y tres ejes a, perpendiculars al c, formando ángulos de 120° entre sí. La red se asemeja a un panal de abejas en el que cada celdilla es uno de estos hexágonos (Fig. 35-3a). Los iones de Ca^{2+} ocupan dos tipos de posiciones: los de Ca^{2+} en columna ocupan los vértices del prisma, mientras que los iones de Ca^{2+} en triángulo se sitúan en el interior de cada hexágono.

Considerando estos últimos, su disposición forma, perpendicularmente al eje c y en planos diferentes, triángulos equiláteros alternados y girados 60° . Los triángulos se disponen separados verticalmente 0.34 nm, en posiciones correspondientes a $1/4$ y $3/4$ de la altura del prisma hexagonal, que es de 0.68 nm. Los iones de F^- se sitúan en el centro de cada uno de estos triángulos (Fig. 35-3b). El hidroxiapatito tiene una estructura similar, con los iones OH^- sustituyendo a los de F^- . La disposición es ligeramente diferente y el cristal, menos compacto, ya que los OH^- no se sitúan en el mismo plano que los Ca^{2+} en triángulo, sino que están ligeramente desplazados (Fig. 35-3c). Los aniones de fosfato se sitúan por parejas adyacentes sobre cada uno de los lados del hexágono, entre los iones de calcio en columna (Fig. 35-3d).

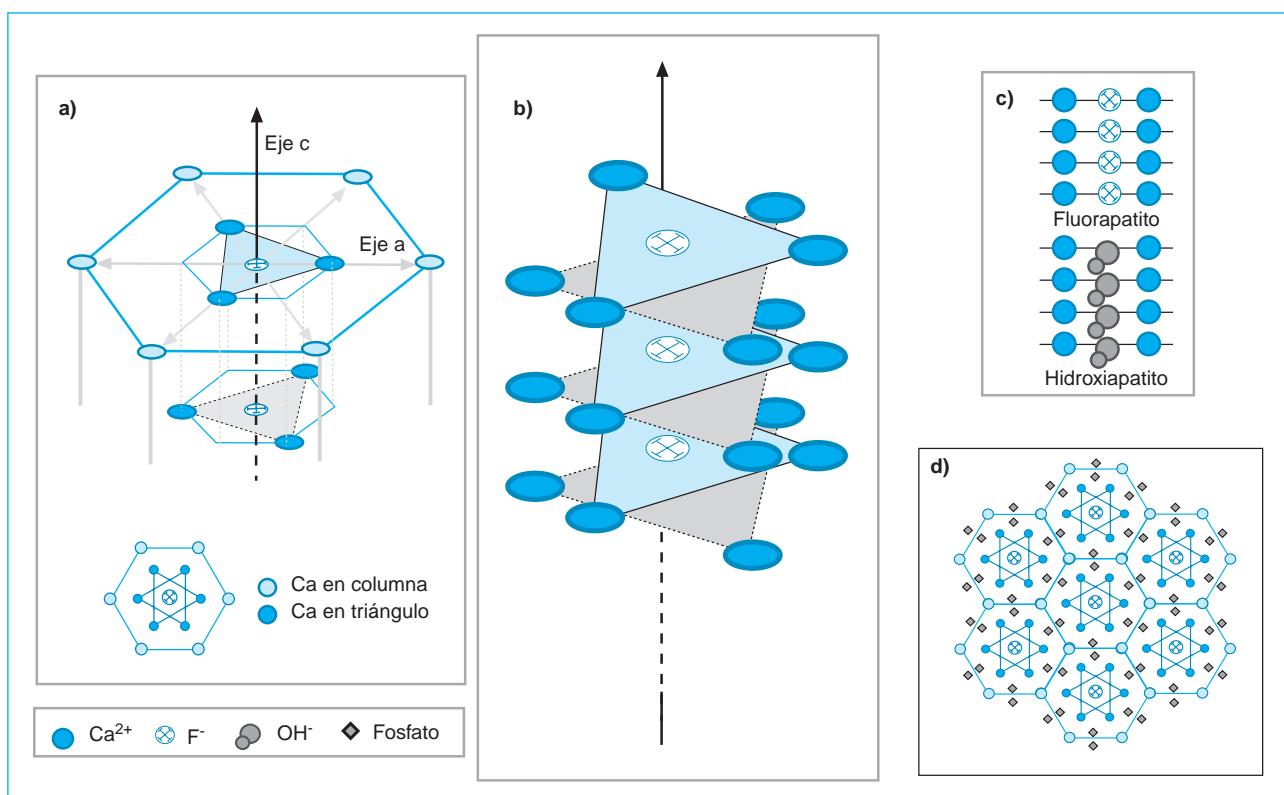


Figura 35-3. Sistema cristalino del fluorapatito. a) Prisma hexagonal mostrando una sección con los dos tipos de posiciones adoptadas por los iones de Ca^{2+} y una visión cenital del prisma unidad, con el flúor en el eje y los iones de Ca^{2+} de dos planos diferentes. b) Detalle de los triángulos superpuestos que forman los iones de Ca^{2+} , con el anión F^- en el centro de cada triángulo. c) Visión lateral de los triángulos en el fluorapatito y el hidroxiapatito. d) Esquema de la red hexagonal completa, con la posición de los iones de fosfato sobre las aristas.

Tabla 35-4. Principales iones sustitutivos de Ca^{2+} , PO_4^{3-} y OH^- en apatitos biológicos

Sustitutivos del Ca^{2+}	Sustitutivos del PO_4^{3-}	Sustitutivos del OH^-
Mg^{2+} (0.5-1%)	CO_3^{2-} (2-5%)	Cl^- (0.2-0.5%)
Na^+ (1-2%)	CO_3H^-	F^-
K^+ (0.2-0.5%)	Citrato (1-2%)	CO_3^{2-}
Pb^{2+} o Sr^{2+} (trazas)	AsO_4^{3-} (trazas)	Br^- e I^- (trazas)

Tanto los iones de calcio, como los de fosfato son compartidos por varias celdillas hexagonales, de modo que no es posible representar la celda unidad, es decir, una parte del cristal que contenga exactamente los iones en las proporciones existentes en el fluorapatito, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$.

Los apatitos biológicos tienen más hidroxilos que fluoruros, y su estructura es más compleja debido a la incorporación de pequeñas cantidades de otros iones al cristal (Tabla 35-4). La relación Ca/P es inferior a 1.67 porque, además del apatito cristalino, contienen una proporción considerable de fosfato cálcico amorfo (hasta el 40% en un fémur adulto), con una relación Ca/P de 1.5, y algunos intercristales pequeños de fosfato octocálcico, con una relación aún menor (1.33).

Considerando la función biológica que desempeña, el apatito debe ser poco reactivo. Sus reacciones principales son las de disolución en medios ácidos y la de intercambio de iones. Ambas tienen un aspecto perjudicial, pues suponen la disolución del hueso o el diente, pero, también, un aspecto beneficioso, al convertir los tejidos calcificados en reguladores ácido-base y electrolíticos de los líquidos con los que están en contacto (suero, saliva y líquido extracelular). Desde el punto de vista del equilibrio *ácido-base*, el apatito es una gran reserva alcalina, puesto que, en exceso de acidez, provoca una reacción de neutralización que solubiliza material. Por el contrario, un aumento del pH desplaza la reacción en sentido contrario, depositándose material. Además del pH, en la regulación del equilibrio intervienen la PTH y la calcitonina.

En cuanto a las reacciones de *intercambio*, los cristales de apatito intercambian iones en contacto con disoluciones de fosfato cálcico (*intercambio isoiónico*) o de otros iones que puedan integrarse en el cristal (*intercambio heteroíónico*). Este intercambio es la base de la incorporación de fluoruro al hidroxiapatito dental mediante el uso de agua potable fluorada o dentífricos. El proceso es rápido en la capa exterior del apatito (de 1 a 5 minutos), pero muy lento en el núcleo interno del cristal. Así, en la práctica, 2/3 de la masa ósea no son reactivos.

El fluoruro aumenta la estabilidad del apatito, principalmente, en el esmalte. A una concentración de 100 ppm sustituye OH^- en la red cristalina del hidroxiapatito, aumentando la perfección de los cristales. Si su concentración supera a 100 ppm, puede formar CaF_2 en la capa exterior o de hidratación. En ambos casos, el cristal se hace más resistente a los ácidos. El efecto protector lo realiza más el F^- disuelto que el CaF_2 insoluble depositado, que actúa como almacén liberador de F^- cuando el pH disminuye. El ataque ácido sobre el apatito se produce porque los protones retiran aniones de fosfato e hidroxilo y desplazan los equilibrios reflejados en la Figura 35-4, solubilizando el hidroxiapatito.

El ácido fluorhídrico (H_2F_2) es un ácido débil (pK aproximado de 3.2) por la posibilidad de formar puentes de hidrógeno que retengan los protones y hagan posible el equilibrio entre las especies disociadas y no disociadas. En estas condiciones, el fluoruro, al llamado pH crítico de 5.5 y a una

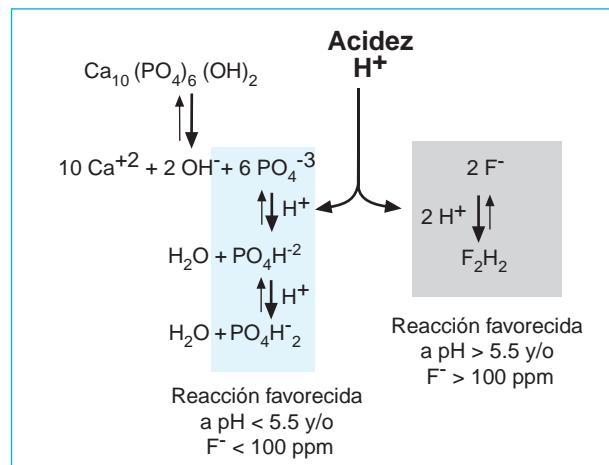


Figura 35-4. Reacciones químicas que ilustran la disociación y solubilización del hidroxiapatito mediante captación de protones del anión fosfato tribásico (PO_4^{3-}) a especies menos básicas. El fluoruro compite con el fosfato por la captación de protones, protegiendo el hidroxiapatito. Este mecanismo de protección es alternativo a su incorporación al cristal. La protección del fluoruro es efectiva a concentraciones > 100 ppm y/o $\text{pH} > 5.5$.

concentración de unas 100 ppm, capta H⁺ con afinidad semejante a los hidroxilos, formando H₂F₂ y protegiendo así el esmalte. Pero pueden existir otros efectos del F⁻ no beneficiosos debidos a su incorporación al hueso o a interferencias con el metabolismo celular (Recuadro 35-2), mientras que sus efectos protectores contra la caries se exponen en el Capítulo 36.

35.4.2 Proteínas de los tejidos calcificados

El colágeno constituye, aproximadamente, el 90% de la proteína total de los tejidos calcificados. Su estructura molecu-

lar contiene unidades de *tropocolágeno* (véanse los Caps. 7 y 34), al igual que sucedía con el colágeno del tejido conjuntivo. El tropocolágeno de los tejidos calcificados es mayoritariamente de tipo I (véase la Tabla 34-1) y la fibra de colágeno es más insoluble por tener un menor recambio y formar un mayor número de entrecruzamientos entre residuos de hidroxilisina con *lisinal* o *hidroxilisinal* (véase el Cap. 34).

En cualquier caso, las moléculas de tropocolágeno, una vez situadas en el espacio extracelular destinado a calcificarse, adoptan una disposición tridimensional ordenada en filas paralelas, con huecos de unos 40 nm entre cada unidad, mostrando mayores irregularidades que en el caso del tejido conjunti-

Recuadro 35-2. LAS FLUOROSIS

Después de décadas de adicionar fluoruro en el agua potable para la protección dental, aún existe controversia sobre esta práctica. La Agencia norteamericana de Protección Ambiental (EPA) y el Consejo de Investigación Nacional Americano (NRC) revisaron el tema en agosto del 2003. Debe tenerse en cuenta que la adición de fluoruro al agua es una práctica muy común en los EEUU, que afecta al 55% de la población, pero poco en Europa, donde sólo afecta al 2%, aproximadamente.

Una ingesta de agua de 2 L/día, al nivel máximo permitido por la EPA en 1986 de 4 mg/L (4 ppm), significaría una ingestión de 8 mg diarios. A veces, se ha observado fluorosis en personas consumiendo agua con un contenido en flúor de sólo 1 ppm. Por ello, incluso valores inferiores al nivel máximo permitido por la EPA podrían presentar riesgos para la salud, tanto en los huesos como en los órganos.

Las *fluorosis* pueden ser de diferente grado y se manifiestan sobre todo durante el desarrollo dental. La *fluorosis* grave da lugar a dientes teñidos, con microcavidades y susceptibles de fractura fácil, mientras que la moderada

crea pequeños parches opacos y dientes amarillentos pudiendo ocasionar fracturas óseas por la acumulación del anión fluoruro, especialmente de cadera. Desde 1993, también se han descrito algunas enfermedades nerviosas relacionadas con el fluoruro, entre ellas, los depósitos β-amiloïdes típicos de la demencia senil.

Se admite que 20 mg de flúor por día durante 20 años conducirían a un nivel óseo de más de 6000 ppm y, por tanto, a riesgos de fluorosis osteoescleróticas. Existen 4 niveles de fluorosis ósea en función del flúor acumulado en el hueso, según los datos del Dr. P. Connett, de la Universidad de St. Lawrence.

<i>Fase osteoesclerótica</i>	<i>Síntomas</i>	<i>F (ppm) en ceniza ósea</i>
Hueso normal	Asintomático	500-1000
Fase preclínica	Asintomático, ligera detección radiográfica de aumento de masa ósea	3000-5000
Fase clínica I	Dolor esporádico, rigidez en las articulaciones, osteoesclerosis pélvica	6000-7000
Fase clínica II	Dolor crónico en las articulaciones, síntomas de artritis, ligera calcificación de los ligamentos	7500-9000
Fase clínica III	Limitación de los movimientos, calcificación de los ligamentos, deformidades	> 8400

Además el agua no es la única fuente de flúor, y los productos para el cuidado dental o, incluso, alimentos tratados también incorporan cantidades apreciables de flúor. Incluso se ha mostrado cierta preocupación frente a insecticidas empleados en la fumigación de cose-

chas, como el fluoruro de sulfurilo (SO₂F₂), cuyo uso, para ayudar a preservar la capa de ozono, ha aumentado en los últimos años como sustituto del bromuro de metilo. Ese agente deja residuos de flúor inorgánico en productos secos, uva etcétera. En resumen, la experiencia

europea en este aspecto es pobre, y la americana se encuentra en fase de revisión, pero es claro que la adición de flúor al agua potable, en caso de realizarse, debe ser hecha con precaución puesto que en algunos casos los perjuicios podrían ser mayores que las ventajas.

vo, no destinado a calcificarse. Estos huecos se van desplazando en las diferentes filas consecutivas, aproximadamente, una cuarta parte de la longitud de cada unidad de tropocolágeno, dando lugar a fibras similares a las de otros tejidos. La distancia entre las fibras de colágeno, antes del inicio de la mineralización, es mayor que en el tejido conjuntivo blando, lo que parece ser necesario para que el fosfato penetre en la red e inicie el proceso de mineralización.

El 10% proteico restante que completa la matriz orgánica de los tejidos calcificados pueden ofrecer variaciones, aunque, en su mayor parte, es similar a moléculas ya vistas en el caso del tejido conjuntivo, pertenecientes a las familias de *proteoglicanos*, *sialoproteínas* y *proteínas ácidas*. Las dos primeras son glicoconjungados (véase el Cap. 34), mientras que las proteínas ácidas son ricas en los aminoácidos Asp y Glu. La elastina, la fibronectina, la oxitalina y las calbindinas son proteínas muy vinculadas a los ligamentos, tanto periodontal como del tejido conjuntivo, en general. En resumen, las proteínas específicas más importantes para los distintos tejidos calcificados son:

Hueso

- Después del colágeno, la proteína más abundante es una *sialoproteína* muy ramificada en sus cadenas glicídicas, y rica en grupos ácidos de ácido N-acetilneuramínico en la parte glicídica y en Asp y Glu, en la polipeptídica. En el cartílago existe otra sialoproteína análoga, de mayor tamaño que la del hueso mineralizado.
- Osteocalcina* o *BGP* (*proteína ósea con γ-Glu*). Tiene un gran contenido en γ-carboxiglutamato, que se sitúa en esta proteína a distancias regulares e idénticas a las existentes entre los iones de calcio en el cristal de hidroxiapatito. Semejante a la osteocalcina, existe otra proteína de matriz menos abundante, la *MGP*, que contiene sólo cinco restos γ-Glu por molécula.
- Osteonectina*. Es una fosfoproteína ácida muy rica en aminoácidos hidroxilados (Ser y Thr), y dominios de interacción distintos, tanto para el colágeno, como para el hidroxiapatito.
- Osteopontina*. Es una sialoproteína altamente fosforilada común en los huesos y dientes. Contiene regiones de poliaspartato y motivos RGD que sirven para interacción con el hidroxiapatito extracelular (las primeras) y con las integrinas del glicocáliz de membranas celulares. Es una proteína enigmática con múltiples funciones, puesto que se expresa en distintas fases del desarrollo óseo, la cicatrización de las heridas, la respuesta inmunológica y la oncogénesis. Estimula la actividad celular de líneas celulares muy diversas, y es una de las proteínas más investigadas para su posible aplicación en el remodelado y mantenimiento de los huesos y dientes.

Dentina

- Fosfoproteínas*. También, llamadas *fosfoforinas*; son bastante abundantes, y el 80% de sus aminoácidos corresponde a Asp o Ser. Una gran parte de las serinas se encuentra fosforilada. Pueden estar relacionadas con el bombeo de calcio durante la mineralización.
- Glicoproteínas poco ácidas*. Forman una familia de proteínas monoméricas sin función conocida.
- Glicoproteínas aniónicas*, tienen propiedades intermedias respecto a las dos anteriores. Son muy ricas en residuos ácidos (suman el 40%) y serina.
- Existen también *proteoglicanos de bajo peso molecular* de glicosaminoglicano, muy ácidos y, fundamentalmente, con condroitín-4-sulfato.

Esmalte

A pesar de su reducido contenido proteico, existen en él dos tipos de proteínas, sintetizadas por los ameloblastos. Las *amelogeninas* son más abundantes en el inicio de la formación del esmalte, pero se eliminan durante la maduración. Tienen un alto contenido en Pro y Glu. La prolina confiere rigidez a la proteína y el glutámico puede formar complejos con el calcio y fijarlo. Su rigidez, equilibrio asociación/dissociación y facilidad para formar geles tixotrópicos son propiedades ideales para la formación de cristales grandes, característicos del esmalte. Su diversidad se debe a procesos de maduración alternativos del ARNm y postraduccionales. Las amelogeninas están codificadas por un gen del cromosoma X (AMELX), y mutaciones en este gen dan lugar a una *amelanogénesis imperfecta* (Recuadro 35-3).

Por otra parte, el esmalte tiene *ameloblastina* y *esmaltinas*, que aunque escasas, son más abundantes que la amelogenina y persisten en el esmalte maduro. Las diversas *esmaltinas* son insolubles y rellenan los espacios entre los cristales minerales. Son críticas para la formación del esmalte, puesto que regulan el crecimiento del cristal de hidroxiapatito de una forma más compacta y con menor contenido en agua, lo que diferencia al esmalte de los otros tejidos calcificados. La más abundante se denomina *tulftelina*, de gran dureza y que, a veces, se ha considerado de la familia de las citoqueratinas por su parecido estructural con las queratinas del epitelio oral.

35.5 EL PROCESO DE CALCIFICACIÓN

La propia restricción del proceso de formación de cristales de apatito, llevada a cabo tan sólo en los tejidos destinados a calcificarse, indica la existencia de mecanismos reguladores del fenómeno, puesto que la calcificación es un pro-

Recuadro 35-3.
**ENFERMEDADES
 HEREDITARIAS DE
 LOS DIENTES**

Existen varios defectos o enfermedades dentales que tienen carácter hereditario. Están relacionados con la formación de los tejidos minerales del diente, principalmente, el esmalte y la dentina.

Las relacionadas con el esmalte son de etiología genética diversa, pero se denominan, en conjunto, *amelogénesis imperfecta*. Su incidencia en niños varía entre 1:4000 y 1:14 000, dependiendo de la población elegida. Se caracterizan por una deficiencia en la cantidad de esmalte (hipoplasia) o en el grosor y porcentaje de masa mineralizada (hipomineralización) del tejido. Además, suelen producir en el diente estrías y depresiones distribuidas al azar, debido

a que los ameloblastos forman durante el desarrollo dental mosaicos irregulares. La hipomineralización presenta distintos niveles de gravedad, tanto en fragilidad, como en pigmentación del esmalte.

Existen al menos dos tipos de *hipoplasias*: la *dominante ligada al sexo* es debida a una mutación en el gen AMELX de la amelogenina del cromosoma X, por lo que en estos casos, la enfermedad la transmite el padre a todas sus hijas y a ninguno de sus hijos, mientras que la madre la transmite al 50% de su progenie. La otra, la *hipoplasia dominante autosómica*, se produce por mutaciones en el gen ENAM de la esmaltina, localizado en el cromosoma 4, dando lugar a un alto porcentaje de casos de las amelogénesis imperfectas en países como Suecia. Su fenotipo es variable, con

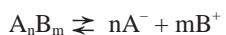
problemas entre moderados o graves, según la mutación.

En el caso de la dentina, las enfermedades se denominan *dentinogénesis imperfecta* y su incidencia es, aproximadamente, de 1:8000. Se heredan de forma autosómica dominante. En ellas, el esmalte es normal, aunque es frecuente que se separe de la dentina con facilidad. El diente es translúcido y opalescente por el color marrón oscuro de la dentina, se desgasta con facilidad y tiene una dentina en crecimiento irregular hacia la pulpa, cuya cámara se reduce e, incluso, queda ocluida. La unión amelodental es lisa, en lugar de tener una forma normal de concha. La *displasia dental* se caracteriza por un desarrollo escaso o prácticamente nulo de la raíz dental; la dentina contiene un mayor porcentaje de agua y masas colágenas abundantes de forma esférica.

ceso indeseable en lugares no destinados a ello, ya que puede alterar el metabolismo general del organismo. Lógicamente, la clave de tal regulación debe de encontrarse en la matriz orgánica, pero ésta es demasiado compleja como para poder asignar a sólo uno de sus componentes el papel de iniciador o regulador de la calcificación. Existen dos principios básicos esenciales, el puramente inorgánico (las leyes fisicoquímicas de las disoluciones) y el orgánico (la participación de la matriz orgánica y celular en el proceso). Examinaremos los dos.

35.5.1 Principios fisicoquímicos: la solubilidad del hidroxiapatito y el equilibrio entre el cristal y los iones en disolución

Si una sal poco soluble se baña con una disolución, algunos iones abandonan el cristal sólido hasta llegar a una situación de equilibrio dinámico en el que se disuelve el mismo número de iones que se depositan sobre el cristal. En esas condiciones, la disolución está saturada, y el producto de las concentraciones de los iones elevadas a unos coeficientes que dependen de sus proporciones relativas en el cristal se llama *producto de solubilidad*. Cuanto menor sea ese producto, menor será su solubilidad.



$$P_s = [A]_s^n[B]_s^m$$

La complejidad del hidroxiapatito biológico, tanto por su estequiometría molecular como por la pequeña proporción de otros iones incorporados al cristal, hace imposible determinar su producto de solubilidad exacto. En todo caso, la presencia de esos otros iones aumenta su solubilidad. Como el calcio y el fosfato son los más importantes, a ellos nos referiremos, ya que el producto de solubilidad para el hidroxiapatito biológico disuelto en una solución isotónica, respecto al plasma, es 50 veces mayor que el correspondiente al hidroxiapatito puro ($6.9 \cdot 10^{-7} \text{ M}^2$ frente a $13 \times 10^{-9} \text{ M}^2$).

La concentración sérica de Ca^{2+} libre es aproximadamente de 1.5 mM, y la de HPO_4^{2-} oscila entre 0.8 y 1.5 mM, con lo que el producto iónico de estos iones en suero oscila entre 1.05 y $2 \cdot 10^{-6} \text{ M}^2$, claramente superior a la solubilidad del apatito biológico, lo cual convierte al suero en una disolución sobresaturada de iones Ca^{2+} y HPO_4^{2-} . Una situación similar tiene la saliva. En consecuencia, lo difícil no es explicar el depósito de estos iones sobre el colágeno, sino todo lo contrario: cómo impedir la cristalización del hidroxiapatito sobre cualquier otro tejido, independientemente de que contenga colágeno. Esto indica que el proceso no está gobernado sólo por leyes basadas en la solubilidad, sino que deben de existir reguladores negativos de la cristalización. A este respecto, el *pirofosfato* ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$) es un potente inhibidor de la calcificación, está presente en todos los líquidos biológicos y compite con el fosfato en la red cristalina del apatito, pero su

carga y tamaño lo hacen incompatible con el crecimiento del cristal. Basándose en este hecho, se llegó a proponer que la actividad fosfatasa alcalina fuera la reguladora del proceso de mineralización, ya que podría hidrolizar el pirofosfato y eliminar el principal inhibidor fisiológico. Sin embargo, el problema, debido a una serie de consideraciones, no se puede considerar resuelto.

35.5.2 El papel de la matriz orgánica como agente epítáxico

Siguiendo con modelos sencillos, en una disolución sobresaturada de iones Ca^{2+} y HPO_4^{2-} sin otros aditivos, se forman primero cristales de fosfato monoácido de calcio, que después se transforman en hidroxiapatito. Por el contrario, si se añade a la disolución un cristal de hidroxiapatito, se forman directamente cristales de esta especie. Esto demuestra que existe una gran dificultad para la nucleación de un cristal de hidroxiapatito, quizás, por la escasa probabilidad de que se produzca la formación ordenada de un entramado precrystalino que encierre los 18 iones necesarios para la unidad más simple de la red de hidroxiapatito. La presencia de un cristal núcleo ya formado orienta y facilita el proceso (nucleación homogénea).

Sin embargo, la nucleación homogénea no puede explicar la formación de los primeros cristales en el desarrollo embrionario óseo o dental. Para ello es necesaria la *nucleación heterogénea* o *epitaxia*, en la cual un material puede facilitar la cristalización de otro distinto si tiene un espaciamiento similar en su red. La matriz orgánica actúa de centro de epitaxia. En este proceso podrían participar varias proteínas, entre las que se encontrarían el colágeno, como matriz general, y las específicas de cada tejido. Las pruebas a su favor de la participación directa del colágeno son:

- Existe en todos los tejidos que se han de calcificar.
- El colágeno puro sirve de núcleo de calcificación.
- El colágeno de tipo I, propio de los tejidos destinados a calcificarse, tiene un espaciado entre fibras que es, aproximadamente, el doble que el del colágeno de los tejidos blandos, lo que facilita el acceso del fosfato al espacio interfibrilar.
- El bloqueo específico de ciertos grupos carboxilo del colágeno inhibe la calcificación. El bloqueo de otros grupos no afecta al proceso.

Algunas proteínas minoritarias de los tejidos calcificados (osteocalcina, glicoproteínas aniónicas, amelogeninas) tienen grupos capaces de interaccionar con el calcio, mientras que otras poseen grupos fosfato esterificando la proteína. Por ello, pueden también participar en la regulación de la calcificación, bien facilitando o dificultando el proceso.

También existe una regulación celular directa. Las mitocondrias de los osteoblastos y odontoblastos son, especialmente, ricas en calcio y fosfato, y estas células excretan vesículas ricas en estos iones, que pierden la membrana después de la secreción. Los iones liberados cristalizan como agujas o forman precipitados amorfos de fosfato cálcico, que pueden servir de núcleos de cristalización o, por el contrario, revestir el cristal y, así, constituir un mecanismo inhibitorio del crecimiento. Por último, es importante que el sistema de calcificación *in vitro* es difícil de extrapolar a las condiciones *in vivo*, por la posibilidad, en este último caso, de la aparición de factores temporales con una programación genética que regule el proceso, como las proteínas BMP (proteínas morfogénicas óseas) que se comentan a continuación.

35.6 FORMACIÓN DEL HUESO A PARTIR DEL CARTÍLAGO

Además de los mecanismos arriba comentados, como es la acumulación de fosfato cálcico sobre la red de colágeno, que responden a mecanismos físicos de cristalización de sales a partir de soluciones sobresaturadas y a la formación de una red orgánica previa, en el desarrollo del sistema óseo de un organismo en su etapa embrionaria, o cuando se reparan fracturas, participan también factores programados genéticamente.

Aunque no se conocen totalmente, las más importantes y mejor caracterizadas son las BMP de la superfamilia de las TGF β , que cuando se expresan inducen la diferenciación del tejido conjuntivo hasta tejido óseo.

El hueso es una forma especializada de tejido conectivo en el que las fibras de colágeno, principalmente de tipo I, se van rodeando de fosfato cálcico, disminuyendo el contenido en proteoglicanos y, por tanto, en agua. La fase de formación de la matriz orgánica colagenosa y del cartílago se ha descrito en el Capítulo 34. Por otra parte, como se comenta en la introducción a este capítulo, el hueso es un tejido rígido, pero no es en absoluto inerte ni inmutable. Sufre un remodelado continuo, con disolución y deposición que recambia lentamente los componentes de la matriz. En el hueso maduro, esta matriz está formada aproximadamente, por volúmenes casi iguales de fibras de colágeno y cristales de fosfato cálcico, principalmente, hidroxiapatito, lo que viene a sumar, aproximadamente, el 85% del volumen total del hueso. Entre la matriz extracelular hay células, canales y cavidades, que ocupan el 15% restante.

El proceso de formación ósea no ocurre igual en todos los huesos humanos. Los huesos craneales se forman directamente durante el desarrollo embrionario, a partir de placas óseas minúsculas, de modo que no se desarrollan reempla-

zando al cartílago ni tienen hueco interior para la médula ósea.

En cualquier caso, la mayoría de los huesos largos del esqueleto crecen por reemplazamiento de tejido cartilaginoso, que se forma previamente. El tejido óseo crece sólo por aposición, adicionando nuevas capas de matriz ósea sobre la superficie de tejido anterior, en una estrategia perfectamente coordinada durante todo el desarrollo. En estos huesos, cuando el tejido óseo va reemplazando al cartílago, cada milímetro de éste es ocupado por un milímetro del primero, guardando la morfología a escala, que se diseña desde los primeros pasos en cada pequeño cartílago precursor, por ejemplo, del fémur o de la tibia.

El crecimiento óseo es más complejo que el del cartílago. Tras la acción de las BMP y la diferenciación de los fibroblastos en osteoblastos, el hueso va reemplazando al cartílago. Los condrocitos mueren, dejan cavidades, y los osteoblastos llenan y depositan nueva matriz, ahora, más dura y ósea, puesto que el colágeno de tipo II producido por los condrocitos es reemplazado por el de tipo I, producido por los osteoblastos. Éstos van quedando embebidos en la masa osteoide, que se endurece por deposición de fosfato cálcico y las células van transformándose en osteocitos maduros.

Los osteocitos no quedan aislados como los condrocitos, ni proliferan por mitosis. Los osteocitos quedan comunicados entre sí por canalículos, en lagunas o cavidades dentro de la matriz. Mientras los osteocitos van depositando material, los osteoclastos van degradando el cartílago a eliminar y erosionando el propio hueso formado, en un recambio continuo.

Los osteoclastos se originan de monocitos de la médula ósea, y son macrófagos especializados en la reabsorción ósea. Son menos abundantes que los osteoblastos, pero son más grandes y activos en la hidrólisis del colágeno y los proteoglicanos y en la eliminación de Ca^{2+} . Forman túneles por donde crecen también capilares sanguíneos, que vascularizan el tejido y permiten la supervivencia de los osteocitos, que rellenan de nuevo y forman capas concéntricas, observables en la sección de un hueso adulto que ya ha sufrido varias etapas de formación y disolución. En el interior queda la médula ósea y el cartílago sólo permanece como una capa fina en la superficie del hueso, para las articulaciones. Sin embargo, en el hueso persisten fibroblastos capaces de transformarse en nuevos condroblastos y formar nuevo cartílago, responsables de reparar en caso de fractura.

El hueso es, pues, un tejido dinámico, resultado de un balance continuo entre actividades opuestas y fuerzas mecánicas. Las fuerzas de compresión favorecen la actividad osteoblástica y la deposición de material, mientras que la falta de compresión favorece la erosión osteoclástica. Esto permite que ante una fractura, el hueso crezca en la dirección y el

sentido adecuados para que el remodelaje no produzca apenas deformaciones.

35.7 FORMACIÓN, MADURACIÓN Y RECAMBIO IÓNICO DEL ESMALTE

Mientras que el proceso de calcificación de la dentina es semejante al óseo, el esmalte presenta características propias. La resistencia del esmalte es mayor que la del resto de los tejidos minerales debido a dos características fundamentales:

- Sus cristales son mucho más grandes. Este hecho hace que la superficie de contacto con la capa de hidratación sea menor que en el caso de la dentina, lo que disminuye su reactividad.
- Un gran porcentaje de su peso es hidroxiapatito, y su contenido en agua y biomoléculas orgánicas es inferior al 1% (Tabla 35-2), aunque su composición varía con el grosor, siendo la superficie externa más dura que la interna. En ésta, la unión amelodental es más rica en componentes orgánicos y los cristales contienen más carbonato y menos flúor.

Las diferencias en la composición del esmalte, según la zona y el tipo dentales, se deben al proceso de maduración. La formación comienza con la secreción de la fase orgánica por los ameloblastos, y continúa con la mineralización. Un incisivo humano se empieza a formar como un núcleo opaco en la parte superior de la unión amelodental, que se convertirá en la corona del diente (Fig. 35-5a). Al principio es blando, desmenuzable, y se separa fácilmente de la dentina. Después se extiende como una banda estrecha a lo largo del diente hacia la raíz, a la vez que el núcleo original se ensancha y sigue un proceso de mineralización progresiva. El esmalte blando, antes de la erupción del diente, tiene una densidad de 1.45, sólo un 33% de material inorgánico y un 44% de agua, valores que contrastan con los del esmalte maduro (Tabla 35-2). Cuando el diente aflora, el esmalte es ya duro y resistente, aunque su mineralización continúa. En el diente maduro, el lateral tiene un contenido orgánico intermedio entre el esmalte y la dentina, y sólo la corona tiene esmalte con muy poca materia orgánica (Fig. 35-5b).

La solubilidad del esmalte depende del pH del medio, al igual que la de los otros tejidos formados con hidroxiapatito. Cuando se expone a pH ácido, libera Ca^{2+} y, al contrario, el pH básico provoca la captación de este ion. A diferencia del hueso, donde el pH del líquido que lo baña oscila entre 6.5 y 7.5, en el diente, el metabolismo de las bacterias de la placa

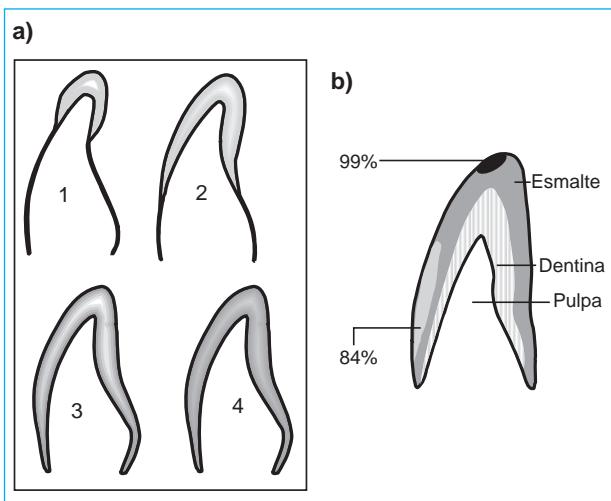


Figura 35-5. a) Fases en la formación del esmalte tras la erupción dental, desde la corona que ya tiene esmalte cuando la pieza aflora (fase 1), hasta el recubrimiento lateral de toda la zona visible en el diente adulto (fase 4). b) Contenido en apatito (% en peso) del esmalte de un incisivo maduro.

dental hace variar el pH del microentorno del esmalte entre 4.5 y 8.5 (véase el Cap. 36). Cuando los ácidos orgánicos disminuyen el pH, el hidroxiapatito libera calcio, formándose fosfato monoácido de calcio.



No obstante, la sobresaturación de estos iones en el líquido de la placa dental dificulta la solubilización, pero se forma una capa amorfa que protege el apatito de ataques más profundos. Cuando el pH sube, el fosfato monoácido de calcio se reconvierte en hidroxiapatito, a través de intermedios de fosfato trícálcico, que, lentamente, captan calcio y los hidroxilos o

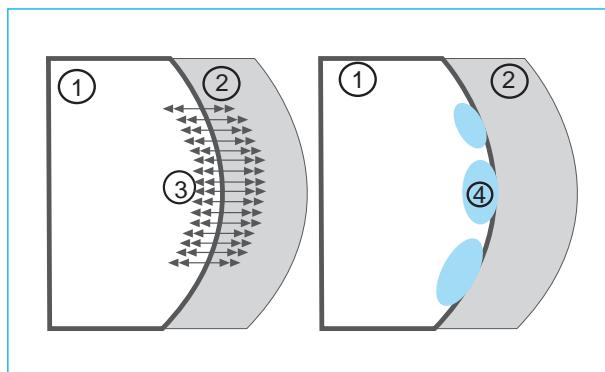
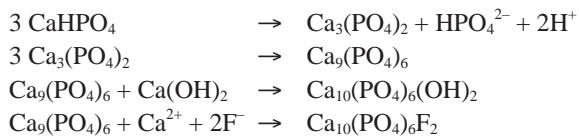


Figura 35-6. Zonas de cavitación en el esmalte (1) que se van formando en su zona más superficial (4), debidas a las mineralizaciones y desmineralizaciones sucesivas (3) inducidas por la acidez causada por las fermentaciones bacterianas producidas en la placa dental (2).

fluoruros necesarios para reformar hidroxiapatito/fluorapatito:



En presencia de fluoruro, esto supone la transformación lenta del hidroxiapatito en fluorapatito, más compacto y duro. Sin embargo, las desmineralizaciones y remineralizaciones sucesivas del esmalte dan lugar a estructuras cristalinas cada vez más desordenadas. En las regiones más ricas en Mg^{2+} y CO_3^{2-} el proceso llega a ser irreversible, apareciendo manchas blancas en la superficie del diente (Fig. 35-6) que forman zonas de cavitación. Las bacterias colonizan estas zonas, lo que puede destruir el esmalte y, finalmente el diente.

RESUMEN

- En los vertebrados existen dos tejidos calcificados, el óseo y el dental. El tejido óseo es bastante uniforme en todo el esqueleto, pero en los dientes se distinguen tres estructuras, el cemento y la dentina, que son similares al hueso y el esmalte, más duro y mineralizado.
- Estos tejidos tienen un origen mesodérmico común. Se forman a partir de fibras de colágeno y células especializadas, osteoblastos, cementoblastos y odontoblastos.
- Los iones que forman los tejidos minerales son el calcio y el fosfato. Su metabolismo y nivel en los líquidos biológicos se regulan hormonalmente por depósito o la movilización desde el tejido óseo. La vitamina D estimula la absorción intestinal de Ca^{2+} , especialmente, el 1,25-dihidroxcolecalciferol (DHCC), que se forma por la acción conjunta de la piel, el hígado y el riñón. Existen dos hormonas reguladoras: la parathormona (PTH) y la calcitonina. La PTH aumenta el nivel de Ca^{2+} plasmático, activando los osteoclastos, pero no afecta al nivel de fosfato porque actúa sobre los túbulos renales, favoreciendo su excreción. Requiere vitamina D. La calcitonina disminuye el nivel de Ca^{2+} , inhibiendo la acción osteoclástica. Estas hormonas apenas afectan la calcificación dental.
- La erupción dental es un proceso complejo con la intervención de factores específicos como la proteína relacionada con la PTH (PTHrP), que conjugan el crecimiento de la pieza ósea con la actividad osteoclástica del alveolo óseo.
- Los componentes principales de la fase mineral y orgánica son, respectivamente, el apatito y el colágeno. El apatito es una forma compleja de fosfato cálcico que contiene otros iones, como OH^- y F^- , según sea hidroxiapatito $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ y fluorapatito $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$. El cristal unidad es hexagonal, con el Ca^{2+} ocupando dos posiciones, en columna y en triángulos interiores al hexágono; los iones F^- o OH^- , en el centro de los triángulos y el fosfato, sobre los lados del hexágono, entre los iones de calcio en columna. Los cristales de apatito intercambian iones, lo que permite la incorporación de fluoruro al hidroxiapatito. El proceso es rápido en la capa exterior, pero muy lento en el interior. El F^- aumenta la estabilidad del apatito, principalmente, en el esmalte y lo protege, pero puede presentar otros efectos no beneficiosos.
- El colágeno constituye el 90% de la proteína total. Es mayoritariamente del tipo I. El 10% proteico restante que completa la matriz orgánica de los tejidos calcificados pertenece a los grupos de proteoglicanos, sialoproteínas y proteínas ácidas. En el hueso destacan la osteocalcina o BGP (proteína ósea con γ -Glu), osteonectina osteopontina, mientras que en la dentina se encuentran fosfoforinas y en el esmalte, amelogeninas y esmaltinas.
- El proceso de calcificación está sujeto a una estrecha regulación. El suero y la saliva están sobresaturados con Ca^{2+} y HPO_4^{2-} , pero el pirofosfato ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$) y otros agentes, como la estaterina inhiben la cristalización. La matriz orgánica actúa como agente epitáxico del hidroxiapatito, pero no está claro si es el apatito u otras proteínas. También existe una regulación celular directa.
- En el desarrollo embrionario del sistema óseo participan factores como las BMP (proteínas morfogénicas óseas), de la superfamilia de las TGF β . Los huesos largos crecen por reemplazamiento de tejido cartilaginoso formado previamente. Los condrocitos mueren, dejan cavidades, y los osteoblastos llenan y depositan la matriz ósea, diferenciándose en osteocitos maduros. Los osteoclastos degradan el cartílago a eliminar y el propio hueso, de modo que éste es un tejido dinámico con un balance continuo entre actividades opuestas y fuerzas mecánicas.
- La maduración del esmalte presenta características propias. La formación comienza con la secreción de la fase orgánica por los ameloblastos, y continúa con la mineralización. Cuando el diente aflora, el esmalte es ya duro y resistente, aunque la mineralización continúa. Incluso en el diente maduro, sólo la corona tiene esmalte de máxima dureza. Su recambio se debe a los ácidos orgánicos que disminuyen el pH y liberan calcio. Las desmineralizaciones y remineralizaciones sucesivas del esmalte dan lugar a estructuras desordenadas y manchas blancas que forman zonas de cavitación, colonizadas por las bacterias si no se toman los medios adecuados.

EVALUACIÓN

1. (A). Calcio, fósforo y tejidos mineralizados:
 - a. El calcio que los seres humanos tienen en sus huesos y dientes no es reabsorbible, por lo que no puede contribuir a recuperar eventuales situaciones de hipocalcemia.
 - b. Mientras que la mayor parte del Ca y el P óseos está en forma cristalina (hidroxí y fluorapatito), en los dientes, ambos elementos se encuentran como sales amorfas.
 - c. Los huesos y dientes se mineralizan porque la $[Ca^{+2}]$ y de [fósforo] de la sangre es tan alta que supera el producto de solubilidad de sus sales.
 - d. El hueso es mucho más duro que el esmalte de los dientes.
 - e. La parathormona, además de activar la síntesis renal de la *1-hidroxilasa*, que actúa sobre 25-HCC, activa la reabsorción renal del Ca^{+2} de la orina.

2. (B). Pueden ser causas de raquitismo:
 1. La carencia de vitamina D.
 2. La hipofosfatasia.
 3. La carencia de fosfatasa alcalina.
 4. La carencia de tirosinasa.

a b c d e

3. (A). De los tejidos calcificados, el más duro es:
 - a. El hueso.
 - b. El cemento.
 - c. La dentina.
 - d. El esmalte.
 - e. Todos los anteriores presentan igual dureza.

4. (A). Tejidos calcificados:
 - a. La estructura y composición de la dentina es más parecida a la del esmalte que a la del cemento.
 - b. El esmalte es un tejido más mineralizado y especializado que la dentina y el cemento.
 - c. La dentina es un componente minoritario del diente.
 - d. La dentina reviste las raíces del diente y lo fija a fibras de colágeno del ligamento periodontal.
 - e. El grado de cristalinidad del esmalte es inferior al del hueso.

5. (B). Origen de los tejidos dentales:
 1. En todos los casos es ectodérmico.
 2. Los osteoblastos son los precursores de la predentina.
 3. Los osteocitos son los precursores de los osteoblastos.
 4. Cementoblastos y odontocitos son términos sinónimos.

a b c d e

6. (A). El peso atómico del Ca es 40. Una concentración plasmática de 5 mEq/L de iones de calcio equivale, en mg por 100 mL, a:
 - a. 100.
 - b. 200.
 - c. 20.
 - d. 10.
 - e. Ninguno de los anteriores.

7. (A). Metabolismo fosfocálcico:
 - a. La calcemia tiende a conservarse en un rango biológico constante de 2.5 ± 0.2 mM.
 - b. El calcio plasmático unido a la albúmina y las globulinas séricas es muy minoritario.
 - c. La concentración plasmática de fósforo es tan constante como la de calcio.
 - d. El único órgano clave para la síntesis del metabolito activo de la vitamina D es el hígado.
 - e. El metabolito de la vitamina D de mayor actividad es el 21,25-dihidroxicolecalciferol.

8. (B). Regulación del metabolismo óseo y dental del calcio y fósforo:
 1. La forma fisiológica más activa de la vitamina D es el 1,25-dihidroxicolecalciferol.
 2. La parathormona aumenta la actividad de los osteoclastos y osteocitos e inhibe la reabsorción renal de fósforo.
 3. La concentración plasmática de calcio regula de forma antagonista la secreción de la calcitonina y la PTH.
 4. La vitamina D aumenta la absorción intestinal y renal de calcio y fósforo.

a b c d e

9. (A). Metabolismo del calcio y el fósforo:
 - a. La PTH se libera de las células principales de la glándula paratiroides, cuando sube la calcemia.
 - b. La calcitonina posee un fuerte efecto estimulante sobre la absorción intestinal del calcio.
 - c. La calcitonina es una hormona esteroidea derivada del dihidroxicolecalciferol.
 - d. La PTH ejerce una acción hipercalcemiante y tiene una actividad osteoclástica alta.
 - e. La excreción metabólica principal de calcio y fósforo es la vía urinaria.

EVALUACIÓN (continuación)

10. (B). Composición del hueso, la dentina y el esmalte:
- Sus componentes principales son el apatito y el colágeno.
 - El esmalte es el de menor contenido mineral.
 - El contenido en agua suele ser inferior al 10 %.
 - El esmalte es el que posee un mayor contenido en colágeno.
- a b c d e
- 11(A). Proteínas de los tejidos calcificados:
- Esos tejidos contienen, además del colágeno, proteoglicanos y sialoproteínas.
 - Las fosfoproteínas son típicas del esmalte.
 - La osteocalcina contiene una gran cantidad del aminoácido β -alanina.
 - Las proteínas mayoritarias del esmalte son las esmaltelinas.
 - Las amelogeninas poseen un bajo contenido de prolina y de glutamato.
12. (B). Estructura del apatito biológico:
- El cristal contiene dos tipos de calcio: en columna y en triángulo.
 - En el hidroxiapatito, los iones hidroxilo sustituyen a los iones de fluoruro del fluorapatito en posiciones equivalentes.
3. Los iones de fosfato se sitúan por parejas en las aristas de las celdillas hexagonales cuyos vértices están ocupados por los iones de calcio.
4. Los iones hidroxilo, al contrario de lo que ocurre con los iones fluoruros, se sitúan en el mismo plano que los iones de calcio en triángulo.
- a b c d e
13. (B). Acerca de los colecálciferosoles:
- El más activo es el 1,25-dihidroxcolecalciferol.
 - La hidroxilasa hepática hidroxila la posición 25.
 - La hidroxilasa renal hidroxila la posición 1.
 - La hidroxilasa renal no es específica, y puede hidroxilar otras posiciones dando productos menos activos.
- a b c d e
14. (B). Acciones hormonales sobre el Ca^{2+} :
- La PTH se forma en las células C.
 - La PTH aumenta el nivel de Ca^{2+} plasmático.
 - La secreción de PTH es proporcional al nivel de Ca^{2+} .
 - La PTH es ineficaz en casos de raquitismo.
- a b c d e
15. (C). La calcitonina disminuye el nivel de Ca^{2+} en sangre
PORQUE inhibe la acción osteoclástica.
- a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Cole AS, Eastoe JE: *Biochemistry and oral biology* 2.^a ed. Ed. Wright 1988.
- Hu JC, Yamakoshi Y: Enamelin and autosomal-dominant amelogenesis imperfecta. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003; 14: 387-398.
- Pellerin C, Pellat B: *Biochimie odonto-stomatologique*. Ed. Masson 1986.
- Ramos JA: *Bioquímica buco-dental*. Ed. Síntesis 1996.
- Rosen CJ: Regeneración ósea. *Inv y C* 2003; mayo 50-57.
- Rosen V, Thies RS: The BMP proteins in bone formation and repair. *TiG* 1992; 8: 97-102.
- Sodek J, Ganss B, McKee MD: Osteopontin. *Crit Rev Oral Biol Med* 2000; 11: 279-303.
- Williams RAD, Elliott JC: *Basic and applied dental biochemistry* 2.^a ed, Churchill-Livingstone 1989.

36.1 EL MEDIO ORAL

La boca es el inicio del tubo digestivo y, por tanto, presenta similitudes con éste, pero, también, peculiaridades por su exposición al medio externo. La cavidad oral es una cámara de fermentación natural con condiciones que podrían calificarse de ventajosas para el mundo microbiano. Así, la saliva ofrece condiciones fisicoquímicas favorables y constantes, la ingestión de nutrientes es periódica, y los productos de desecho del metabolismo bacteriano no se acumulan. Las bacterias orales forman un ecosistema en el que las especies que encuentran un buen nicho ecológico sobreviven, y las que no encuentran un ambiente adecuado tienden a desaparecer. La implantación de poblaciones bacterianas hace variar la composición física y química de su microentorno, y puede producir situaciones patológicas en el epitelio oral y la dentadura, de interés obvio en odontología. La comprensión del metabolismo de la flora bacteriana presente en la boca es esencial para la interpretación, la profilaxis y el tratamiento de la patología oral.

La interacción de saliva, dieta y bacterias produce la acumulación de material sobre el esmalte dental. Ese material se llama *placa dental*, y se forma incluso sin ingestión de alimentos. La placa dental siempre existe, al menos en las superficies no accesibles a la limpieza por cepillado, y no es sinónimo de situación patológica, aunque está muy relacionada con ella. La placa es en cierta forma un tejido peculiar que contiene bacterias, productos de degradación celular y una matriz extracelular compuesta por polisacáridos y proteínas.

36.2 LA SALIVA: TIPOS, PROPIEDADES Y COMPOSICIÓN

La *saliva* es la secreción acuosa de viscosidad variable que baña la boca y forma sobre la superficie dental una fina película. Sus funciones son bastante variadas, regulando una serie de procesos homeostáticos, lubricantes y defensivos. Pueden enumerarse de la siguiente forma:

1. Protectora, en varios aspectos: en primer lugar, sus glicoproteínas le confieren propiedades reológicas, o viscoelásticas, que ofrecen protección química, mecánica y lubricante en la masticación de los alimentos de textura dura; en segundo lugar, contiene proteínas con propiedades antisépticas y defensivas frente a microorganismos; en tercer lugar, y también actúa como solución de lavado que retira de forma periódica bacterias y toxinas solubles liberadas de éstas. Como prueba de estas funciones protectoras, la pérdida de la secreción salival (*xerostomía*, o boca seca, producida por el *síndrome de Sjödren*, en el que se destruyen las glándulas salivales y lacrimales) produce inflamación oral y estimula la caries.
2. Reguladora frente a valores de pH alejados de la neutralidad, sobre todo, los ácidos: la saliva puede neutralizar la acidez de algunos alimentos, o de los ácidos orgánicos procedentes de la fermentación bacteriana y, así, proteger el esmalte. En primer lugar, porque la acidez estimula la secreción de saliva; en segundo lugar, por la presencia en esta secreción de dos parejas iónicas, en orden de importancia $\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{CO}_3$ y $\text{HPO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{PO}_4^-$, que actúan en el sentido de neutralizar esa acidez. La saliva no estimulada es ligeramente ácida (presenta un pH = 6-6.5), y su concentración de HCO_3^- es aproximadamente de 1.3 mM. Cuando la secreción se estimula, la concentración de este anión bicarbonato aumenta hasta alcanzar valores de 30-60 mM, la relación $\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{CO}_3$ se eleva y el pH sube a 7.5-8. Respecto al fosfato, su concentración total en la secreción no estimulada se cifra, aproximadamente, en 5 mM, pero, tras la estimulación, esta concentración baja hasta 2 mM y ello contribuye también a que el pH suba.
3. Reparadora: su contenido iónico sobresaturado en iones de calcio y fosfato suministra material necesario para la reparación de microcavidades de desmineralización en la superficie del esmalte.
4. Digestiva: La saliva contiene α -amilasa (antiguamente, llamada *ptialina*), enzima que digiere parcialmente los polisacáridos de la dieta, principalmente, el almidón.

5. Control del equilibrio acuoso por conexión con el sistema neurosensorial: la deshidratación inhibe la secreción de saliva, lo que produce sed y alerta a la persona para que ingiera de agua, que contrarresta la deshidratación.
6. Facilitadora de la expresión oral, puesto que la saliva lubrica la lengua y los labios y favorece la vocalización y dicción.
7. Finalmente, la saliva es diluyente de sabores, facilitando la degustación de los alimentos.

El volumen de secreción salival es variable, y depende de los hábitos de cada persona. Un rango adecuado estima ese volumen entre 0.5 y 1 L por día. En cada instante, la boca contiene un volumen aproximado de 1 mL, que cuando se excede da lugar a una disminución por deglución refleja. Ello supone que la saliva se reemplaza entre 500 y 1000 veces al día (entre 2-3 veces por minuto), retirando restos alimentarios y gran cantidad de bacterias (se ingieren de 1 a 2.5 g de masa bacteriana por día).

En condiciones basales y ausencia de estímulos, la velocidad de secreción media puede cifrarse en 0.3 mL/minuto, pero puede alcanzar los 5 mL/minuto cuando se estimula por los receptores gustativos y olfativos. La secreción se inhibe casi totalmente con el sueño, el miedo o la anestesia.

La saliva se forma en varias glándulas. Un 90% procede de tres: *parótida*, *submaxilar* y *sublingual*. El 10% restante se forma en las *glándulas accesorias*, situadas en el paladar y en la superficie interna de los labios y las mejillas. La saliva de la parótida es poco viscosa y rica en α -amilasa y fosfato. La saliva de las glándulas submaxilar y sublingual es más viscosa y rica en calcio y glicoproteínas. La saliva de las glándulas accesorias apenas contiene fosfato pero, es rica en cloruro.

La saliva mixta es la mezcla en la boca de todas estas salivas puras y de otros componentes procedentes de los alimentos, de la degradación celular y de bacterias desprendidas de la placa. Tiene un contenido en agua entre el 94-99.5%, y un pH entre 6 y 8. Es hipotónica con respecto al plasma, pero con diferente contenido iónico (Tabla 36-1): Contiene más K^+ , NH_4^+ , fosfato y tiocianato (SCN^- , anión que no existe en el plasma), y menos de los restantes iones plasmáticos. Cuando aumenta la secreción, su composición se approxima más a la del plasma. Respecto a los componentes orgánicos, su contenido en biomoléculas pequeñas es escaso y muy variable con el tiempo. Los niveles de azúcares suben por un corto período después de ingerir alimentos que los contienen.

El contenido proteico es de 1.5-2.5 g/L. Las proteínas más abundantes son las *glicoproteínas* salivales, o *mucinas*, causantes de las propiedades viscoelásticas de la saliva y con

Tabla 36-1. Comparación de la concentración media de iones, metabolitos y proteínas en saliva y plasma humano

	<i>Saliva</i>	<i>Plasma</i>
Iones (mM)		
Ca^{2+}	1-2	2.5
Mg^{2+}	0.2-0.5	1
Na^+	5-25	140
K^+	15-30	4
NH_4^+	1-7	0.03
Fosfato	2-20	2-3
Cl^-	15-30	103
HCO_3^-	2-30	27
SCN^-	0.1-2	—
Metabolitos (mM)		
Urea (adulto)	2-6	5
Urea (niño)	1-2	—
Urato	0.2	3
Aminoácidos	1-2	5
Glucosa	0.05	5
Lactato	0.1	1
Ác. grasos (g/L)	0.01	3
Lípidos (g/L)	0.025	5
Proteínas (mg/mL)		
Total	1.5-6.5	70
Glicoproteínas	0.1-0.3	1.4
α -Amilasa	0-0.4	—
Lisozima	0.1	—
Peroxidasa	0.003	—
IgA	0.2	1.3
IgG	0.015	13

acción antiadhesiva y antibacteriana. Las más importantes son tres, la glicoproteína rica en prolina de la parótida (*PRG*), con un 40% de hidratos de carbono, y las mucinas *MG1* y *MG2*, procedentes de las glándulas submandibular y sublingual. La MG1 tiene un peso molecular alto, un 78% de hidratos de carbono y un 7% de sulfato, aunque el 15% péptido todavía tiene propiedades hidrofóbicas para facilitar su adhesión a la membrana de los estreptococos. La MG2 es más pequeña que la MG1, tiene un contenido glucídico del 68% y un 2% de sulfato.

Además, posee proteínas aniónicas, enzimas, como la *α -amilasa*, la *anhidrasa carbónica* y las *cistatinas*, globulinas de defensa como los aglutinógenos, proteínas antibacterianas y antifúngicas, como son las *histatinas*, y fosfoproteínas, como la *estaterina*, que junto con la existencia de trazas de pirofosfato impiden la formación de cristales de fosfato

Recuadro 36-1.**LAS ESTATERINAS Y LAS HISTATINAS: PÉPTIDOS SALIVALES CON DIFERENTE FUNCIÓN**

Las *estaterinas* y, en menor proporción, las *proteínas acídicas ricas en prolina* (PRP), son fosfopéptidos con alta afinidad por hidroxiapatito, que inhiben, tanto el crecimiento del cristal sobre la superficie del diente, como la precipitación de fosfato cálcico en el medio soluble sobresaturado de calcio y fosfato, que existe en la saliva. Las *estaterinas* deben ese efecto a una estructura muy peculiar. Codificadas por un gen de más de 6 kpb, con 6 exones y 5 intrones, su número de aminoácidos oscila entre 40 y 50, según la especie. Concretamente, la secuencia de la estaterina de la saliva de macaco es la siguiente:

DpSpSEEKFLRRRLRFDEGRYGPYQ
PFVPPPLYPQPYQPYQPQY.

La molécula muestra zonas estructurales muy claras. Su extremo N-terminal es muy ácido (las posiciones 2 y 3 son residuos de fosfoserina). Este extremo forma una α -hélice anfipática y es clave para la interacción con el hidroxiapatito por su cara más hidrofílica, mediante fuerzas electrostáticas y puentes de hidrógeno. Después de una zona básica, a partir del residuo 20 aparece la zona rica en P, Q e Y. La P da lugar a un fragmento con estructura secundaria de poliprolina de tipo II, y el extremo C-terminal tiene estructura de lámina β . Estos fragmentos son también clave para inhibir la formación del cristal inorgánico.

Respecto a las *histatinas*, son una familia de péptidos catiónicos ricos en His, de al menos 5 miembros, con fuertes propiedades antibacterianas y antifúngicas. Son producidos, principalmente, en la saliva de la parótida. Sus masas moleculares oscilan entre

3000 y 5000. Los extremos N-terminal y C-terminal son idénticos en todos los miembros, y las diferencias se encuentran en la región central. Tienen afinidad por la superficie mineral del esmalte. Son especialmente eficaces frente a hongos, como *Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans*, aunque el mecanismo molecular de la acción antifúngica no es bien conocido. Algunos datos apuntan que las *histatinas*, al agregarse, producen canales a través de la membrana, como los ionóforos, pero otros datos sugieren que inhiben la síntesis del ergosterol, el esterol clave de las membranas fúngicas. Sus propiedades antifúngicas, baja toxicidad y facilidad de síntesis les hace ser compuestos con aplicaciones terapéuticas y que se utilicen como componentes de la saliva artificial en pacientes con disfunciones en la secreción de este líquido.

cálcico en las glándulas y conductos salivales. La estructura de la *estaterina* permite su interacción con los iones, por una parte, y, por otra, al presentar una zona hidrofóbica, impide el crecimiento del cristal (Recuadro 36-1).

36.3 LA FLORA Y LA PLACA DENTAL. FORMACIÓN Y METABOLISMO

La boca de un recién nacido aún no contiene bacterias, pero este estado es poco duradero y en una atmósfera normal y en unas pocas horas comienza la colonización del epitelio oral. Los tipos de bacterias que van colonizando la mucosa bucal dependen de la capacidad microbiana para:

1. Obtener nutrientes de la dieta, obviamente, leche, que es el alimento principal en ese período.
2. Tolerar los cambios de pH, oxígeno, fuerza iónica, entre otros.
3. Vencer los mecanismos de defensa ya presentes en el neonato, como los anticuerpos y la lisozima.
4. Crecer a mayor velocidad que otras especies que compiten por el mismo nicho.
5. Adherirse a la superficie de la mucosa, resistiendo el lavado de la saliva.

Las cepas bacterianas colonizadoras más usuales pertenecen a los géneros *Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Actinomyces*, pero, a los pocos meses de vida del niño, la colonia se hace mucho más diversa, particularmente, cuando afloran los dientes, que ofrecen nuevas superficies más firmes y permiten enriquecer la dieta, entrando en juego nuevos factores que afectan a la adaptación. De forma global, aparece entonces una *flora dental* más compleja, capaz de fermentar los hidratos de carbono y producir ácidos orgánicos, quizás, los compuestos directamente responsables de la *caries*, cuando se retienen en la placa. Sin embargo, la relación entre bacterias y caries es muy compleja, resultado de muchos otros factores además de la producción ácida.

La saliva favorece por sus propiedades reguladoras el crecimiento bacteriano, pero también dispone de varios mecanismos defensivos que limitan este crecimiento de la flora dental. Entre estos mecanismos se puede citar que:

- *Contiene O₂ disuelto*. Los organismos patógenos suelen requerir un ambiente anaerobio para producir las fermentaciones, es decir, crecen mejor en medios poco oxidantes, con un potencial redox bajo. En todos los puntos de la boca sanos y bien bañados por saliva, el oxígeno disuelto mantiene un potencial

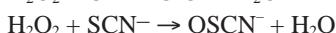
redox de, aproximadamente, +200 mV, pero en los márgenes gingivales y zonas estancadas y poco bañadas, o en zonas del periodonto de dentaduras enfermas, en condiciones poco oxigenadas y más bien reductoras, se pueden medir potenciales de hasta -300 mV.

— *Genera especies oxidadas* con propiedades bactericidas. La saliva actúa en combinación con los neutrófilos presentes, por filtración en el área gingival, que genera H₂O₂. El peróxido de hidrógeno es un agente bactericida importante porque además de su acción directa generadora de oxígeno, produce reacciones aún más efectivas:

- Con trazas de Fe⁺² existentes en la saliva se produce la formación de radicales libres muy bacteriotóxicos mediante la *reacción de Fenton*:



- Es sustrato de la *mieloperoxidasa* de los neutrófilos y de la *peroxidasa* soluble salival, que catalizan la oxidación de cloruro y tiocianato a hipoclorito e hipotiocianato, que son especies, también, muy bacteriotóxicas:



— Contiene IgA, lisozima, aglutinógenos e histatinas (Recuadro 36-1), que son todas proteínas defensivas contra las bacterias, mediante mecanismos no enzimáticos y distintos entre sí. En el 80% de la población (población *secretora*) existen aglutinógenos salivales característicos, de forma similar a los que están presentes en la membrana de los eritrocitos y determinan los distintos grupos sanguíneos. Estos grupos, además de su función fisiológica, son útiles en pruebas periciales y de identificación, que analizan los restos de saliva en vasos usados, filtros de cigarrillos, etcétera.

A pesar de la presencia de todas estas proteínas defensivas, una parte de la población bacteriana vence todos estos mecanismos y permanece en la boca. Partiendo de un esmalte relativamente limpio, tras un cepillado energético que elimine la mayoría de la masa bacteriana, la saliva baña el diente y forma inmediatamente una *película* de unos 10 μm de espesor, viscosa y compuesta de glicoproteínas, que evoluciona a gelatinosa por depósito de fosfato cálcico. Esta película es invadida de nuevo por bacterias que colonizan su superficie, secretan proteínas y polisacáridos microbianos y van dando consistencia y grosor a la llamada *placa dental*. Esta placa

tiene una textura variable dependiendo de la composición de la dieta, las cepas bacterianas, la disponibilidad de sacarosa y el tiempo que transcurre hasta un nuevo cepillado de eliminación. En el proceso de formación de la placa es fundamental la capacidad adhesiva de las bacterias, y se pueden diferenciar tres etapas:

1. *Establecimiento reversible* de la bacteria sobre la superficie.
2. *Adhesión irreversible*, por formación de interacciones hidrofóbicas y puentes electrostáticos favorecidos por la presencia de Ca⁺² entre las dos superficies.
3. *Colonización* de la superficie, con multiplicación celular muy activa. En esta etapa es cuando aparecen los polisacáridos extracelulares de origen bacteriano, que constituyen, junto a las proteínas, la *matriz* de la placa. Estos polisacáridos son llamados, genéricamente, con el sinónimo de *glicanos* y, más específicamente, *glucanos* (homopolisacáridos de glucosa con enlaces α(1 → 6), α(1 → 4) y α(1 → 3) y, en menor proporción, *fructanos* [de fructosa]). Además, los *glucanos* con mayoría de enlaces α(1 → 6) se denominan *dextranos* y son relativamente solubles, mientras que los que tienen mayoría de enlaces α(1 → 3) se llaman *mutanos* y son más insolubles. En el caso de los *fructanos*, los más importantes son los *levanos*, también solubles y con predominio de enlaces β(2 → 6).

Las bacterias de la placa contienen dos enzimas muy específicas que utilizan sacarosa para formar estos polisacáridos, valiéndose del poder reductor de los dos carbonos anoméricos del enlace glicosídico de la sacarosa como energía impulsora para la polimerización. Otros disacáridos, como la maltosa o la lactosa, son sustratos mucho peores por tener enlaces glicosídicos, en los que participa sólo un carbono anomérico. Las dos enzimas son:

1. *Dextrano sacarasa o glucosil transferasa*, que sintetiza y alarga dextranos, según la reacción:

$$\text{Sacarosa} + (\text{Glucosa})_n \rightarrow (\text{Glucosa})_{n+1} + \text{Fructosa}$$
2. *Levano sacarasa o fructosil transferasa*, que sintetiza y alarga levanos:

$$\text{Sacarosa} + (\text{Fructosa})_n \rightarrow (\text{Fructosa})_{n+1} + \text{Glucosa}$$

Ciertas cepas de *Streptococcus salivarius* producen *levanos*, y otras de *Streptococcus sanguis* producen *dextranos*, pero su poder cariogénico es muy dudoso. *Streptococcus mutans*, llamado así por su morfología variable, es cariogénico y produce *mutanos* insolubles porque contiene una enzima extra que

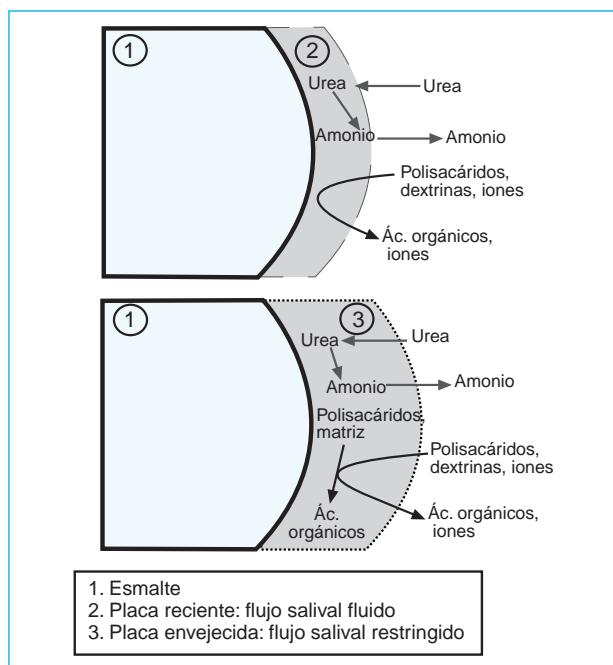


Figura 36-1. Relación entre el grosor de la placa y el intercambio de materiales con la saliva. En la placa delgada reciente (superior), el intercambio de urea, iones, ácidos orgánicos y polisacáridos es fluido, pero en la placa envejecida (inferior), los polisacáridos de la matriz hacen ésta más gruesa y tupida, el intercambio más limitado y la fermentación anaerobia más favorecida.

forma enlaces $\alpha(1 \rightarrow 3)$. Así, existe una cierta relación entre la capacidad de una bacteria para sintetizar polisacáridos extracelulares insolubles y sus propiedades cariógenas. La razón más fiable de ello es que esos polisacáridos insolubles forman placas más gruesas y de difícil acceso, favoreciendo el metabolismo anaerobio que libera los ácidos que atacan el esmalte.

En este sentido, cualquier placa madura, debido al entramado proteína/polisacáridos y a la calcificación progresiva, va limitando la penetración y difusión de moléculas. La matriz actúa de tamiz molecular, de forma que las proteínas defensivas de la saliva no pueden entrar, y iones como los ácidos orgánicos y el NH_4^+ , producto del metabolismo bacteriano, quedan retenidos en la placa. Sólo las biomoléculas neutras y pequeñas, como los azúcares y la urea, pueden difundir desde la saliva a la placa.

Las condiciones de esta difusión dependen del grosor de la placa (Fig. 36-1). Los polisacáridos insolubles forman una placa gelatinosa y adhesiva que restringe aún más el intercambio de materiales y favorece las fermentaciones anaerobias. La composición media y las características de la placa madura se reflejan en las Tablas 36-2 y 36-3. Los niveles de calcio y fosfato en solución exceden su producto de solubilidad, estabilizando el esmalte. Algunos iones, como el lactato, están muy concentrados, debido al metabolismo bacteriano y la lisis de algunas de estas células.

Tabla 36-2. Composición media de la placa dental madura

Compuesto	%	Distribución
Agua	80	50% extracelular (líquido de la placa) 30% intracelular
Material orgánico	18	10% masa bacteriana 6% proteínas extracelulares 2% polisacáridos extracelulares
Sales solubles	2	60 mM K^+ ; 35 mM Na^+ ; 6.5 mM Ca^{2+} ; 3.5 mM Mg^{2+} ; 30 mM NH_4^+ ; 14 mM fosfato. Lactato variable, desde 100 mM (en ayuno) hasta 800 mM (5 min después de ingerir azúcar)

Tabla 36-3. Resumen de las características de la placa

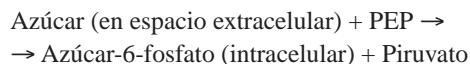
Tipo de placa	Características
Reciente y sin ingestión de alimentos que contengan sacarosa	<ol style="list-style-type: none"> 1. Delgada ($< 100 \mu\text{m}$) y porosa 2. Bacterias en proceso de colonización 3. Contiene sólo glicoproteínas y sales de Ca^{2+} 4. Permeable a O_2, saliva y líquido gingival
Envejecida o tras la ingestión de alimentos conteniendo sacarosa	<ol style="list-style-type: none"> 1. Gruesa (hasta 2 mm) y gelatinosa 2. Impermeable a O_2, metabolitos bacterianos cargados y macromoléculas 3. Conducente a caries si no se elimina frecuentemente

36.4 LA FLORA DENTAL Y LAS FERMENTACIONES

Las principales fuentes energéticas disponibles para la flora dental son los azúcares, los aminoácidos y la urea, derivados de la degradación de los glucanos, los fructanos y las glicoproteínas. Las bacterias de la placa, desde el punto de vista metabólico, se pueden dividir en dos grandes grupos:

- Bacterias que utilizan *hidratos de carbono* para producir ácidos orgánicos por fermentación. Genéricamente, producen una disminución del pH y son cariógenas. A medida que la placa se impermeabiliza, la proporción de organismos anaerobios fermentativos aumenta, con la producción de ácidos láctico, acético, propiónico, butírico, fórmico, etcétera. Los *estreptococos* son las bacterias anaerobias facultativas predominantes en estas condiciones, y en ausencia de oxígeno obtienen toda la energía de la glicólisis anaerobia (véase el Cap. 14). El transporte de los azúcares lo realizan mediante dos sistemas:
- *Sistema del fosfoenolpiruvato (PEP)* (véase la Fig. 10-8). Es muy afín, específico de cada monosacárido y opera a pH neutro. Consiste en el des-

plazamiento del azúcar mediante su fosforilación, introduciéndolo en la célula:



- *Sistema dirigido por la fuerza protonmotriz*, que es de baja afinidad y activo cuando el pH extracelular es inferior al intracelular. Este mecanismo, por ejemplo, es el principal en *Streptococcus mutans*, lo que hace que el pH extracelular ácido (5.5-6) y la alta concentración de azúcares favorezcan la proliferación de estas bacterias. El gradiente protónico es esencial para el transporte, puesto que funciona por un *simporte* de azúcar y H^+ . Los protones se intercambian, a su vez, por K^+ mediante la ATPasa, con gasto de ATP (Fig. 36-2).

El metabolismo anaerobio del azúcar en la célula bacteriana depende de las cantidades captadas (Fig. 36-3a). Si el suministro de azúcar es escaso, se activan la *piruvato formiato liasa* y la *acetato quinasa*, que transforman el piruvato en formiato y acetato, respectivamente, lo que es una ventaja desde el punto de vista energético por la obtención de una molécula de ATP extra, al hidrolizarse el acetilfosfato. *Bacteroides*

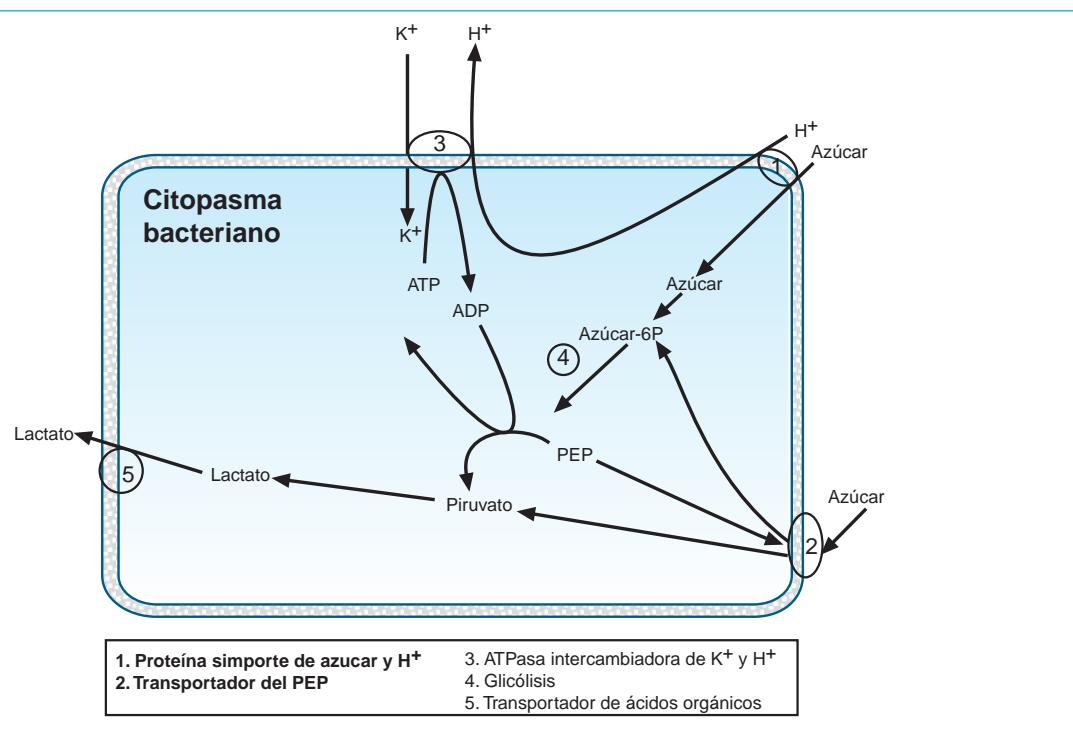


Figura 36-2. Célula bacteriana de la placa, mostrando los 2 sistemas disponibles para el transporte de azúcar [el de simporte con H^+ , o de la fuerza protonmotriz, 1), y el del fosfoenolpiruvato (PEP, 2)], así como la ATPasa intercambiadora de H^+ y K^+ y algunos pasos de su metabolismo y excreción de lactato por el transportador de ácidos orgánicos.

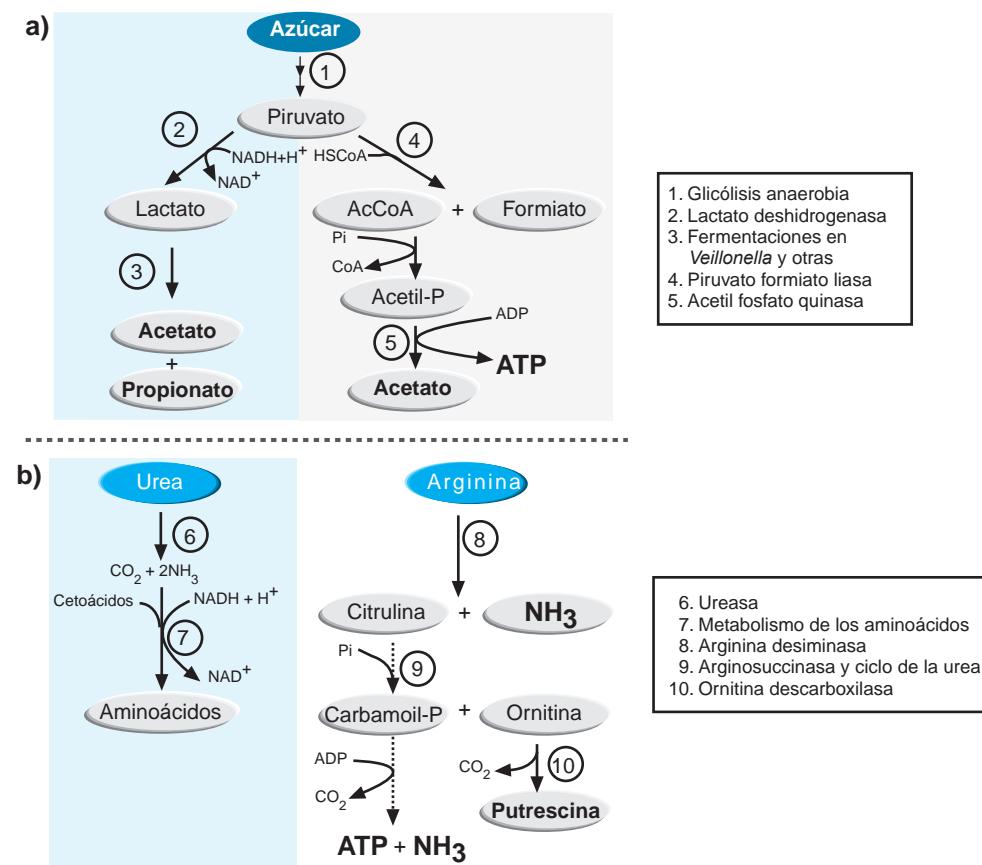


Figura 36-3. Rutas metabólicas bacterianas: a) Glicólisis anaerobia y fermentaciones ácidas. Destino del piruvato, según la disponibilidad de azúcar. En abundancia (superior izquierda), la lactato deshidrogenasa da lugar a varios ácidos orgánicos por fermentaciones, que dependen de las cepas. En escasez (derecha), la piruvato formiato liasa conduce a acetato para obtener energía extra (ATP). b) Transformaciones nitrogenadas básicas. Además de la ureasa (inferior izquierda), muy ubicua, algunas cepas bacterianas expresan arginina desiminasa (inferior derecha), que permite formar amoníaco y otros metabolitos básicos.

melaninogenicus es un gran productor de formiato por esta vía. Si el suministro es elevado, también lo serán las concentraciones de gliceraldehído-3-fosfato (inhibidor de la *piruvato formiato liasa*) y de fructosa-1,6-difosfato (activador de la *lactato deshidrogenasa*). Ello favorece la fermentación láctica, mientras que disminuye la síntesis de formiato. El ácido láctico excretado al exterior baja el pH y puede ser captado por *Veillonella* para su transformación en acetato y propionato.

- Bacterias que utilizan nutrientes nitrogenados, para producir sustancias básicas que pueden dar lugar a cálculos. La urea salival pueden utilizarla los microorganismos que poseen actividad *ureasa* alta, para formar amoníaco. El amoníaco sube el pH de la placa, directa o indirectamente, por su incorporación

a los aminoácidos debido a la acción de diversas enzimas bacterianas (Fig. 36-3b). Una ruta bacteriana básica alternativa es la iniciada por la *arginina desiminasa*, que utiliza *arginina* y forma *amoníaco* y *putrescina*.

El metabolismo ácido (basado en la fermentación de los azúcares) y el básico (que utiliza nutrientes nitrogenados) son opuestos y se neutralizan mutuamente. Por ejemplo, el ácido más abundante, el lactato, se neutraliza por los iones de amonio y las aminas liberadas del metabolismo de la arginina; además, *Veillonella* utiliza el lactato secretado por los estreptococos para formar otros ácidos menos fuertes.

Usualmente, la placa contiene una gran variedad de bacterias, pero el análisis en ayunas muestra, normalmente, un pH casi neutro, con predominio de acetato, y cantidades

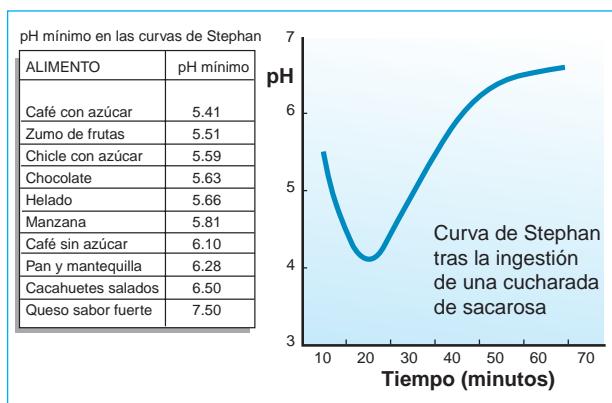


Figura 36-4. Perfil de la curva de Stephan para la sacarosa y valores de pH mínimos alcanzados por algunos alimentos y bebidas comunes. Obsérvese que el pH alcanzado por la sacarosa es menor que los mostrados en la tabla.

menores de formiato, propionato y butirato. Después de ingerir hidratos de carbono, el pH es ácido y el lactato alcanza su máximo, aproximadamente, a los 15 minutos; pero, a los 45 minutos, retornan las condiciones iniciales, con descenso del lactato y subida del pH. Las curvas de Stephan, que expresan el registro del pH mediante electrodos colocados en la placa, se utilizan para valorar el potencial cariógeno de los alimentos. La sacarosa, muy cariógena, baja el pH hasta 4. La Figura 36-4 muestra el pH mínimo o máximo de las curvas de Stephan para algunos alimentos comunes según la naturaleza del alimento.

36.5 ENFERMEDADES DE LA PLACA: CARIOS Y GINGIVITIS

Según lo anteriormente expuesto, existe una relación entre el metabolismo de la placa, la dieta y las enfermedades dentales, aunque el sistema es multifactorial y, por tanto, complejo. Entre las enfermedades, dos de las más frecuentes son la *caries*, que se caracteriza por la pérdida de material calcificado, y la *gingivitis*, o inflamación de las encías, que puede gradualmente llegar a destruir el tejido de soporte de los dientes. La caries tiene en la mayoría de los casos una relación directa con una población elevada de *Streptococcus mutans*, y la gingivitis suele estar más relacionada con placas ricas en bacterias como *Actinomyces viscosus* y *Bacteroides melaninogenicus*.

Los efectos de la sacarosa sobre la caries son muy claros, como se deduce por una serie de experiencias, entre las que destacan:

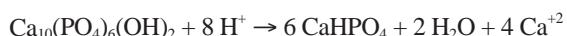
- Los animales con dietas ricas en sacarosa presentan abundantes caries. Animales control mantenidos en

las mismas condiciones y dietas, excepto el cambio de sacarosa por glucosa, apenas presentan caries.

- En experimentos de voluntarios sometidos a dietas ricas en proteínas y grasas, se observa que presentan una placa delgada y poco cariógena. La adición de sacarosa a la dieta hace que la placa sea más gruesa y gelatinosa.
- Si se inoculan bacterias de placa dental a disoluciones de sacarosa, con el tiempo se desarrollan precipitados adhesivos sobre el fondo y las paredes del recipiente. Estos mismos precipitados apenas se producen si la disolución es de monosacáridos, como glucosa, fructosa o lactosa.

Por otra parte, la *teoría de Kleinberg* distingue tres tipos de placa para clasificar los cambios en la solubilidad del apatito debidos al metabolismo de la placa dental:

- *Normal*: que tiene un pH muy semejante al de la saliva y está sobresaturada en calcio y fosfato. No desmineraliza el esmalte.
- *Cariógena*: con un pH ácido (incluso inferior a 5, aunque ese valor es ya extremo para una placa) y un nivel de iones de calcio y fosfato cercano o inferior a la saturación. Cuando la placa envejece, o el aporte de sacarosa en la dieta es elevado, se desarrolla una placa cada vez más gruesa e impermeable. Los glucanos y levanos se utilizan entonces para una fermentación masiva, lo que aumenta aún más la producción de ácidos orgánicos y la disminución del pH. Este pH ácido ataca el apatito del esmalte, que libera calcio y produce especies más solubles, como el fosfato monocálcico.



Por tanto, el cristal del esmalte va siendo más desordenado y se van formando *zonas de cavitación* que son fácilmente colonizables por las bacterias (véase la Fig. 35-6). El proceso desemboca en caries, y en una paulatina destrucción del esmalte y el diente.

- *Litógena*: esta placa presenta un pH permanente más elevado que el de la saliva, lo que tiende a provocar la deposición de fosfato cálcico amorfo sobre el esmalte y la gingiva. La elevación del pH por el metabolismo bacteriano es, también, fuente de enfermedades dentales, puesto que provoca la precipitación de CaHPO_4 y otras especies semejantes que se transforman lentamente en hidroxiapatito y en *cálculos dentales*. La composición de éstos es heterogénea, con muchas de las formas posibles de fosfato cálcico en estequiométría variable de calcio a fosfato y diversas cepas de bacterias fosilizadas.

Aunque, en principio, estos cálculos no debían afectar a la integridad del esmalte, su forma irregular es ideal para la colonización bacteriana, lo que, a la larga, debilita las encías y puede producir gingivitis crónica. En esta situación, el periodontio se inflama y la fijación del diente se va debilitando. Por otra parte, la composición de la colonia bacteriana cambia, aumentando la proporción de bacterias gramnegativas y espiroquetas que, si bien no son responsables directas de la enfermedad, está claro que la agravan al liberar sustancias dañinas para el periodontio. Entre estas sustancias dañinas se encuentran:

- *Toxinas*, que producen inflamación persistente, emigración de linfocitos y liberación de hidrolasas lisosómicas que degradan el tejido epitelial, como *hialuronidasa*, *colagenasa*, *condroitín sulfatasas* y *glicosidasas*.
- *Sales amónicas*, que pueden difundir fácilmente, entrar en las células epiteliales, romper los sistemas de regulación del pH intracelular y causar daños irreversibles.

En suma, tanto la caries como los cálculos provocan, con el tiempo, enfermedades dentales por la formación de bolsillos gingivales y zonas de estancamiento debido a las nuevas superficies de colonización bacteriana en lugares de acceso cada vez más difícil. Todo ello ejerce un ataque prolongado sobre las células epiteliales de las encías, que sufren cambios metabólicos que van minando el tejido gingival y la sujeción del diente a la encía. Las relaciones ATP/ADP, NADH/NAD⁺ y NADPH/NADP⁺ bajan, mientras que aumenta la relación lactato/piruvato. Por otra parte, el ion Na⁺ puede entrar en cantidades masivas en el citoplasma de las células epiteliales, produciendo *edemas* y favoreciendo aún más la invasión bacteriana de estas zonas. La Figura 36-5 muestra las interrelaciones entre la placa, los cálculos y la gingivitis. La placa supragingival es la primera que se forma, y suele ocasionar la formación de cálculos en esa zona, por depósito de fosfato cálcico. Estos cálculos estimulan, a su vez, el aumento de la secreción gingival y la formación de cálculos subgingivales.

36.6 PREVENCIÓN DE LA CARIAS Y OTRAS ENFERMEDADES DENTALES

Las sociedades de los países desarrollados, generalmente en el mundo occidental, presentan una alta incidencia de caries puesto que consumen dietas ricas en sacarosa y ricas en alimentos refinados que necesitan de poca masticación. Es muy frecuente la ingestión de dulces, helados, etcétera. Por el contrario, la incidencia de caries en el tercer mundo es baja,

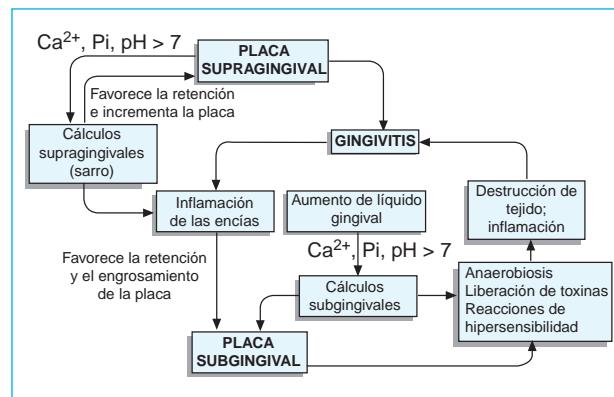


Figura 36-5. Relaciones entre los cálculos supragingivales y subgingivales, la gingivitis y otras enfermedades que afectan el periodonto, en una placa dental litógena producida por la deposición de Ca²⁺ y Pi, a pH superior a 7.

posiblemente porque sus dietas contienen poca azúcar refinada y son fibrosas, lo que exige una masticación vigorosa.

Por tanto, estos hechos demuestran que las dietas con más fibra y menos sacarosa son una buena profilaxis. Pero, en otro sentido, los siguientes factores dietéticos son también efectivos en una reducción significativa de la incidencia de caries en la población:

- Ingesta de grasas: por formar una película hidrofóbica protectora y tener una cierta actividad antimicrobiana por efecto disipador del gradiente de pH (véase más adelante).
- Vitaminas, como la B₆, que estimula el metabolismo de los aminoácidos y neutraliza la producción bacteriana de los ácidos orgánicos, y la vitamina K, necesaria para la formación de residuos γ-carboxiglutamato, frecuentes en las proteínas del diente y que le confieren una mayor fortaleza a su matriz orgánica y una mejor retención de calcio en ella.
- Fosfatos orgánicos: como el fitato que contienen los cereales, puesto que este anión reduce la solubilidad del apatito. Sin embargo, también reduce la absorción intestinal de fosfato.
- Trazas de algunos elementos: como Mo, Mn, V y Sr, que se incorporan al cristal de apatito en huecos dejados por el calcio y reducen su solubilidad.

Sin embargo, el elemento más importante en la lucha contra la caries es el flúor que, en forma de ion fluoruro, es casi esencial para la formación del apatito biológico. Por ello, además de incluirlo en los dentífricos, suele añadirse al agua potable de muchos municipios a una concentración aproximada de 1-4 ppm (véase el Recuadro 35-2). Los efectos beneficiosos del

fluoruro para prevenir la caries son tres, a diferentes niveles, y quizás, en eso se basa que sea el agente más efectivo:

- Reduce la solubilidad del esmalte y lo protege contra el ataque ácido (véase el Cap. 35). Ésta es una acción meramente inorgánica sobre el cristal de apatito, pero, en sí, ya es efectiva.
- Reduce la fermentación de las bacterias. El F⁻ es un inhibidor general del metabolismo por formar sales fosfomagnésicas mixtas insolubles, que inhiben las enzimas que utilizan el Mg²⁺ como cofactor, muy necesarias y frecuentes en el metabolismo fermentativo bacteriano, como la *fosfoglucomutasa*, las *qui-*
- nasas
- Cambia las proporciones de las cepas bacterianas presentes en la placa: principalmente, impide la proliferación de *Streptococcus mutans* y otras cepas dependientes del transporte mediado por fuerza protonmotriz, mientras que favorece el establecimiento en la placa de una mayor riqueza de bacterias menos cariógenas, como las *Actinomyces*, *Veillonella* y otros estreptococos que son capaces de tolerar mejor el fluoruro y, por tanto, tienen ventaja para su proliferación en esas condiciones (Recuadro 36-2).

Recuadro 36-2.

INHIBICIÓN BIOQUÍMICA DE LAS BACTERIAS CARIÓGENAS DE LA PLACA

A pesar de las dificultades para definir la etiología de la caries y su relación con el tipo de microorganismos de la placa, no hay duda de que *Streptococcus mutans* es uno de los máximos responsables. En el 70% de los casos con caries, esta bacteria representa más del 10% del total de la flora oral, mientras que en el 70% de las dentaduras sanas, la bacteria está ausente. Por tanto, la inhibición de los microorganismos de la placa va dirigida, especialmente, contra esta bacteria.

El mejor tratamiento para conseguir limitar su crecimiento se consigue mediante el uso de mezclas de fluoruro y ácidos grasos, puesto que ambos son agentes ideales para romper los gradientes protónicos. En medios extracelulares más ácidos que el citoplasma bacteriano, el pK elevado del ácido fluorhídrico (HF₂) permite que el F⁻ una H⁺ y actúe como su transportador. La membrana plasmática es permeable al ácido fluorhídrico como especie neutra, que difunde y se disocia de nuevo en el citoplasma. Esto provoca que el gradiente de protones a ambos lados de la membrana se rompa, lo que inhibe la síntesis del ATP y el transporte de azúcares mediado por la fuerza protonmotriz, muy esencial para esta cepa bacteriana (Fig. 36-6). Los ácidos grasos actúan contra las bac-

terias más acidógenas, al interferir el gradiente protónico con el mismo mecanismo disipador que el ácido fluorhídrico, puesto que adquieren protones, aproximadamente, a pH 5, y atraviesan fácilmente las membranas por su naturaleza hidrofóbica.

En los dentífricos y elixires se utilizan soluciones compuestas de glucosa, fluoruro y decanoato potásico, que han resultado bastante efectivas a medio y largo plazo. La glucosa actúa de sustrato bacteriano, y cuando el pH de la placa baja, el fluoruro y el decanoato unen protones, pasan al citoplasma bac-

teriano y los liberan en el interior, donde el pH es mayor, contribuyendo a reducir su valor e inhibir el transporte mediado por la fuerza protonmotriz de la glucosa. El ataque es preferentemente contra *Streptococcus mutans*, que es muy dependiente de este tipo de transporte para su metabolismo.

Esta inhibición de las fermentaciones de las bacterias más cariógenas de la placa es un tratamiento paliativo contra la caries, pero es necesario aclarar que si no se acompaña de dietas adecuadas y hábitos de higiene oral, es imposible evitar tal enfermedad.

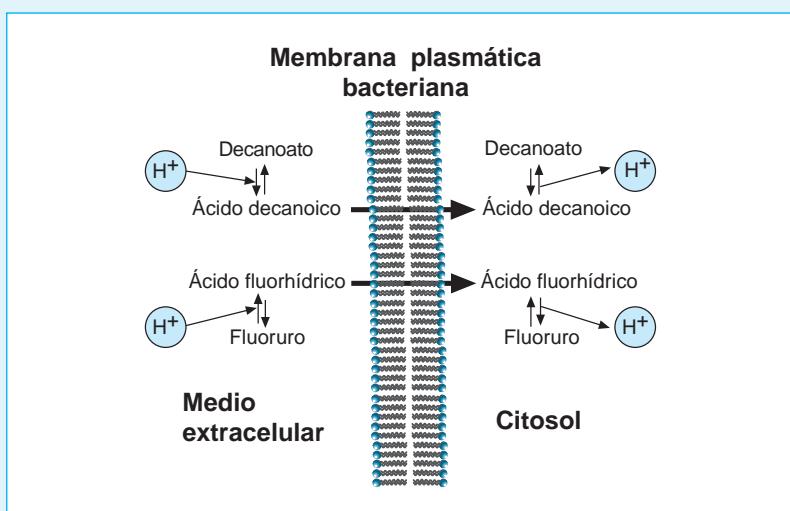


Figura 36-6. Disipación del gradiente de pH, a ambos lados, a través de una membrana bacteriana para neutralizar la fuerza protonmotriz. Los ácidos decanoico y fluorhídrico captan protones en el medio externo, más ácido, atraviesan la membrana por difusión en su forma neutra y los liberan en el citoplasma, menos ácido.

RESUMEN

- La saliva tiene varias funciones homeostáticas, lubricantes, protectoras y defensivas. El volumen de secreción oscila entre 0.5 y 1 L por día y se reemplaza continuamente por la deglución refleja. Se forma en varias glándulas. La saliva mixta es la mezcla en la boca de todas ellas, así como de restos de alimentos, células y bacterias desprendidas de la placa. Posee entre el 94-99.5% de agua, un pH entre 6-8 y 1.5-2.5 g/L de proteínas, principalmente, glicoproteínas. La estaterina impide la formación de cristales de fosfato cálcico en las glándulas y los conductos salivales.
- La boca es una cámara de fermentación para el mundo microbiano, con condiciones adecuadas que favorecen el crecimiento bacteriano. La colonización del epitelio oral se inicia inmediatamente después de nacer. En pocos meses se hace muy diversa y aparece una flora dental compleja. La saliva, las bacterias y los productos presentes en la dieta producen la placa dental que está muy relacionada con la salud dental.
- La matriz de la placa dental está formada por glicanos que se forman gracias a 2 enzimas bacterianas que utilizan sacarosa para formar estos polisacáridos, la *dextrano sacarasa* o *glucosil transferasa*, que sintetiza dextranos, y la *levano sacarasa* o *fructosil transferasa*, que sintetiza levanos. *Streptococcus mutans* produce mutanos insolubles porque tiene una enzima extra que forma enlaces $\alpha(1 \rightarrow 3)$. Estos mutanos forman una placa gelatinosa que favorece las fermentaciones anaerobias y la caries.
- La saliva limita su crecimiento, puesto que mantiene un potencial redox alto, genera especies oxidadas y tiene proteínas con propiedades bactericidas y antifúngicas, como IgA, lisozima, aglutinógenos e histatinas.
- Desde el punto de vista metabólico, las bacterias de la placa se dividen en dos grupos: las cariógenas, que utilizan azúcares para producir ácidos orgánicos por fermentación y las calcilogénicas, que utilizan nutrientes nitrogenados para producir sustancias básicas. Las primeras captan los azúcares mediante dos sistemas, el del fosfoenolpiruvato y el de la fuerza protonmotriz, que opera por gradiente de pH y es el principal en *Streptococcus mutans*.
- El metabolismo ácido (fermentación de azúcares) y el básico (uso de nutrientes nitrogenados) se neutralizan mutuamente en una placa normal en ayunas, dando un pH casi neutro. Despues de ingerir azúcares, el pH baja y luego retorna a las condiciones iniciales. Las curvas de Stephan se utilizan para valorar el potencial cariógeno de los alimentos, según la bajada del pH y el tiempo en regresar a la normalidad.
- La teoría de Kleinberg clasifica las placas en 3 tipos, según los efectos en la solubilidad del apatito debidos a su metabolismo predominante: (a) normal, que tiene un pH casi neutro, está sobresaturada en calcio y fosfato y no desmineraliza el esmalte, (b) cariógena, con un pH ácido y un nivel de iones de calcio y fosfato cercano o inferior a la saturación y (c) litógena, que presenta un pH superior a la saliva y tiende a provocar la deposición de cálculos dentales.
- Los factores dietéticos efectivos en una reducción de la caries son varios, pero el principal es el F, casi esencial para la formación del apatito biológico. Por ello, además de incluirlo en los dentífricos, suele añadirse al agua potable. Sus efectos beneficiosos para prevenir la caries son tres, puesto que reduce (a) la solubilidad del esmalte, (b) la fermentación de las bacterias y (c) la proporción de *S. mutans* de la placa. Sin embargo, el F debe ser utilizado con precaución por los efectos tóxicos de un exceso de este elemento sobre el metabolismo del organismo.

EVALUACIÓN

1. (A). La saliva no contiene:
 - a. Inmunoglobulinas A.
 - b. Peroxidasa.
 - c. Lisozima.
 - d. Glicoproteínas.
 - e. Inmunoglobulinas G.
2. (C). La saliva suele ser una disolución sobresaturada de fosfato y calcio, pero no se forman cristales de fosfato cálcico PORQUE el fosfopeptido estaterina dificulta la interacción entre esos iones, impidiendo su precipitación.

a b c d e
3. (B). Mecanismos de defensa contra el crecimiento bacteriano en la saliva:
 1. Contiene oxígeno disuelto.
 2. Puede ayudar a generar radicales libres muy reactivos.
 3. Contiene IgA, lisozima y aglutinógenos
 4. Contiene peroxidasa.

a b c d e
4. (B). Respecto a la saliva:
 1. Aproximadamente, el 90% de la saliva es secretada por las glándulas parótidas, submandibulares y sublinguales.
 2. El pirofosfato aumenta la tendencia del calcio y del fosfato a formar cristales de fosfato cálcico, en soluciones saturadas de esos dos iones.
 3. La estaterina inhibe la precipitación y el crecimiento de los cristales de fosfato cálcico.
 4. La principal capacidad amortiguadora del pH ejercida por la saliva se debe a su alto contenido proteínico.

a b c d e
5. (A). Los dentífricos normales suelen contener:
 - a. Sales abrasivas.
 - b. Detergentes tensoactivos.
 - c. Antisépticos.
 - d. Todos los anteriores.
 - e. Ninguno de los anteriores.
6. (B). Acerca de las enfermedades dentales:
 1. Las curvas de Kleinberg miden el poder cariogénico de los alimentos.
 2. Las zonas de cavitación se producen por sucesivas solubilizaciones y precipitaciones de fosfato cálcico sobre el cristal del esmalte.
 3. La teoría de Stephan distingue tres tipos de placa, en función de su valor de pH: normal, cariogénica y calcogénica.
 4. Las bacterias que causan la gingivitis producen la liberación de hidrolasas epiteliales.

a b c d e
7. (C). La xerostomía o inhibición de la secreción salival, estimula la caries PORQUE la saliva deja de ejercer su acción de lavado de bacterias y toxinas.

a b c d e
8. (B). Composición y acción de la saliva:
 1. La saliva mixta, en la boca, es hipotónica respecto al plasma, suele tener un pH comprendido entre 6 y 8 y contiene tiocinato.
 2. Entre las enzimas presentes en la saliva NO se encuentran ni la lisozima ni la anhidrasa carbónica.
 3. Las proteínas más abundantes son las glicoproteínas salivares.
 4. El 100% de la población posee en la saliva aglutinógenos salivales iguales a los que determinan los grupos sanguíneos.

a b c d e
9. (C). Las bacterias de la placa dental usan preferentemente sacarosa como cosustrato de la síntesis de dextrans y levanos PORQUE la energía impulsora para la polimerización reside en el poder reductor de los 2 carbonos anómicos que afloran al romper su enlace glicosídico.

a b c d e
10. (B). El flúor, en dosis adecuadas, es beneficioso para la prevención de la caries porque:
 1. Insolubiliza al esmalte.
 2. Inhibe ciertas enzimas bacterianas como: enolasa, quinonas, fosfatasa y fosfoglucosidasa.
 3. Puede bloquear el transporte protonmotriz de los azúcares.
 4. Favorece la eliminación de las cepas bacterianas más cariógenas.

a b c d e
11. (C). La ruta bacteriana de la arginina desiminasa contribuye a incrementar el pH de la placa PORQUE además de liberar amoníaco, transforma la arginina en putrescina.

a b c d e
12. (B). Son bastante cariogénicos los siguientes componentes de la dieta:
 1. Glucosa.
 2. Proteínas y grasas.
 3. Fructosa.
 4. Lactosa.

a b c d e
13. (B). Respecto a la placa dental:
 1. La bacteria *Streptococcus mutans* produce mutanos muy solubles.
 2. El componente mayoritario de la placa dental madura son proteínas extracelulares producidas por las bacterias.
 3. Los azúcares presentes en la saliva pueden ser metabolizados por la placa, convirtiéndolos en grasas.
 4. La enzima dextrano sacarosa cataliza la síntesis y elongación de los levanos.

a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Cole AS, Eastoe JE: *Biochemistry and oral biology 2.^a ed.* Ed. Wright 1988.
- Gururaja TL, Levine MJ: Solid-phase synthesis and characterization of human salivary statherin: tyrosine-rich phosphoprotein inhibitor of calcium phosphate precipitation. *Pept Res* 1996; 9: 283-289.
- Pellerin C, Pellat B: *Biochimie odonto-stomatologique*. Ed. Masson 1986.
- Ramos JA: *Bioquímica buco-dental*. Ed. Síntesis 1996.
- Tsai H, Bobek LA: Human salivary histatins: promising antifungal therapeutic agents. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998; 9: 480-497.
- Williams RAD, and Elliott JC: *Basic and applied dental biochemistry 2.^a ed.* Churchill-Livingstone 1989.

37.1 INTRODUCCIÓN

Conforme se han ido conociendo las bases moleculares de los procesos patológicos, las medidas de los parámetros bioquímicos en los líquidos biológicos han adquirido una mayor relevancia clínica. La Bioquímica Analítica, en su vertiente clínica, se ocupa de la aplicación de los métodos bioquímicos de laboratorio a la prevención, el diagnóstico y el seguimiento de las enfermedades. La importancia de esta disciplina queda de manifiesto al considerar que, en la actualidad, se estima en un 20% la aportación del laboratorio bioquímico al juicio clínico.

En este capítulo se describirán brevemente las características generales de los ensayos de actividad enzimática en los líquidos biológicos, las causas patológicas que puedan conducir a una alteración de los niveles séricos de las enzimas, y la naturaleza de las enzimas con mayor utilidad diagnóstica. Analizaremos también, el empleo de las enzimas como reactivos analíticos. Aunque su uso como fármacos no es frecuente, se comentarán algunos casos en los que las enzimas han encontrado utilidad terapéutica. También, describiremos algunas técnicas inmunoquímicas frecuentes en bioquímica clínica. La utilidad clínica de las técnicas de análisis del material genético ha sido comentada en capítulos anteriores (*véanse* los Caps. 25, 26 y 27) y otro material complementario se puede consultar en el Anexo sobre técnicas especiales.

37.2 ENSAYOS DE ACTIVIDAD ENZIMÁTICA. TIPOS Y CARACTERÍSTICAS

Muchas situaciones patológicas llevan asociados cambios en la concentración sérica de algunas enzimas, cuya medida tiene un valor clínico. Este tipo de determinaciones representa del 5 al 15% de los análisis bioquímicos realizados en los hospitales. Además, las enzimas son específicas para sus sustratos, y pueden utilizarse para identificar y cuantificar determinados metabolitos. Por ello, la enzimología es una parte importante de la bioquímica analítica, en su vertiente clínica.

La velocidad de las reacciones enzimáticas depende directamente de la concentración de la enzima (*véase* el Cap. 9).

Por tanto, la concentración de una enzima en una muestra biológica puede determinarse midiendo la velocidad a la que transcurre la reacción que se produce al mezclar un sustrato apropiado y el líquido biológico a analizar. Estos *ensayos de actividad enzimática* permiten calcular la concentración catalítica de la enzima, en términos de unidades enzimáticas por unidad de volumen. Los ensayos se realizan en condiciones estandarizadas para ser comparables de un laboratorio a otro. Las condiciones del medio de ensayo deben coincidir, en la medida de lo posible, con los valores óptimos para la enzima investigada. Además, debe emplearse una concentración de sustrato de, al menos, cuatro veces la K_m , para asegurarse de que la enzima trabaja en condiciones de velocidad máxima. Tras mezclar los sustratos con el líquido biológico, siempre que se disponga de una técnica analítica adecuada, se determina la aparición del producto en lugar de la desaparición del sustrato, ya que la concentración del producto, es normalmente, mucho menor que la del sustrato, y se cuantifican con más exactitud los incrementos de magnitudes pequeñas que disminuciones de magnitudes grandes.

Los ensayos enzimáticos pueden ser *continuos* o *discontinuos*. En los primeros, se monitoriza, a lo largo del tiempo de reacción, la variación de alguna magnitud física que sea una función de la cantidad del producto formado o de sustrato desaparecido. En los ensayos discontinuos, la mezcla de reacción se deja evolucionar durante un tiempo determinado; la reacción se detiene, por ejemplo, por desnaturización de la enzima en medio ácido, y se cuantifica, entonces, la concentración del producto o del sustrato. Siempre que sea posible, la evolución de las concentraciones del sustrato o el producto se sigue espectrofotométricamente, mediante el cambio de absorbancia a la longitud de onda del máximo de absorción del reactante. La absorbancia de una disolución de un compuesto determinado, a una longitud de onda λ , es directamente proporcional a la concentración del compuesto, de acuerdo con la *ley de Lambert-Beer*:

$$A = \epsilon_\lambda \cdot c \cdot d$$

siendo ϵ_λ una constante denominada *absortividad molar* (históricamente, denominado *coeficiente de extinción*), característica del soluto (absorbancia de una disolución 1 M); d , el

paso óptico de la cubeta de medida (expresado, en cm), y *c*, la concentración del soluto.

Las medidas espectrofotométricas son sencillas, fáciles de interpretar, sensibles y susceptibles de automatización, lo que las convierte en la técnica de elección en la práctica clínica. Existen *ensayos acoplados* para determinar espectrofotométricamente la actividad de enzimas que no pueden medirse directamente, debido a las propiedades de absorción de luz del producto de la reacción. En los ensayos acoplados, el producto formado por la enzima a analizar se utiliza como sustrato de una segunda enzima, que se añade al medio como parte de la mezcla de reacción, y que transforma el producto inicial en un segundo compuesto más fácil de analizar. Si es necesario, pueden acoplarse varias reacciones seguidas hasta dar un producto susceptible de cuantificación espectrofotométrica. Un ejemplo es la determinación de *creatina quinasa* (CK), utilizada en el diagnóstico del infarto de miocardio. CK cataliza la fosforilación de creatina a creatinfosfato, a expensas de ATP. Los productos de reacción no permiten una cuantificación espectrofotométrica, y se recurre a la siguiente serie de reacciones:

Creatina quinasa



Piruvato quinasa



Lactato deshidrogenasa



La última enzima de la serie, *lactato deshidrogenasa* (LDH), reduce el piruvato a lactato, utilizando NADH como cofactor. La cantidad de NAD⁺ generado en esta reacción es una medida del ADP formado en la reacción catalizada por CK. Puesto que los espectros de absorción del NADH y el NAD⁺ son considerablemente diferentes (Fig. 37-1), la tercera reacción puede seguirse espectrofotométricamente, a través del cambio de absorbancia de la disolución, a 340 nm.

El uso de reacciones acopladas que finalicen en la interconversión de NADH y NAD⁺ es muy común en bioquímica clínica, empleándose, por ejemplo, en las medidas de *aminotransferasas*, muy útiles en la evaluación de la función hepática.

37.3 ENZIMAS DE INTERÉS CLÍNICO. PROCEDENCIA Y TIPOS

Las enzimas detectadas en el plasma proceden de la secreción o la liberación desde las células de los tejidos que las

sintetizan. En condiciones normales, la liberación de enzimas por los tejidos es baja, pero puede incrementarse en situaciones patológicas que supongan una alteración en la permeabilidad de las membranas de la célula productora, o una destrucción de la misma. Por ejemplo, la muerte de las células por infección, hipoxia o agresión química, produce la rotura de su membrana celular y la liberación de su contenido. Las enzimas localizadas en el citoplasma pueden liberarse tras un daño moderado, pero cuando la enzima se encuentra en el interior de un orgánulo intracelular, su vertido al torrente circulatorio sólo se produce tras la muerte de la célula. El crecimiento excesivo de un tejido, debido al desarrollo de un tumor, también puede incrementar la liberación de enzimas al torrente circulatorio.

Una vez en la sangre, las enzimas se inactivan por procesos proteolíticos. Algunas enzimas de pequeño tamaño, como la *α-amilasa*, son excretadas por el riñón, por lo que sus niveles en sangre pueden variar cuando se producen alteraciones de la función renal.

Cuando la actividad enzimática por determinar puede estar asociada a varias isoenzimas procedentes de distintos tejidos, no basta con cuantificar la actividad sino que debe precisarse el tipo de isoenzima cuyo nivel plasmático se ha alterado. La identificación de formas isoenzimáticas se realiza, normalmente, por técnicas de separación de proteínas, como la electroforesis o el isoelectroenfoque.

En la Tabla 37-1 se presenta una lista no exhaustiva de algunas de las enzimas de interés diagnóstico más empleadas.

37.4 ENZIMAS COMO REACTIVOS ANALÍTICOS

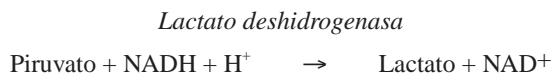
Los sustratos de las reacciones enzimáticas pueden cuantificarse, frecuentemente, utilizando la enzima que cataliza su transformación, y que se utiliza como reactivo analítico altamente específico.

El análisis enzimático de metabolitos puede realizarse mediante dos tipos de ensayo. En los *métodos de punto final* se añade al líquido por analizar una enzima que reconozca al metabolito de interés, y la reacción se deja transcurrir hasta consumir totalmente el sustrato. Si alguna propiedad química o física es diferente en el sustrato y el producto, el cambio en esta magnitud será proporcional a la cantidad del sustrato presente en la muestra. Por ejemplo, la transformación enzimática completa de un metabolito que absorba luz, a una determinada longitud de onda, en un producto que no lo haga, produce una disminución de absorbancia directamente relacionable con la concentración inicial del sustrato transformado. En algunos casos, se utilizan cambios en las propiedades del cofactor de la enzima utilizada. Por ejemplo, el

Tabla 37-1. Algunas enzimas de interés clínico

Enzima	Alteración
α -amilasa	<ul style="list-style-type: none"> Elevada en pancreatitis aguda y en insuficiencia renal crónica. Disminuida en casos de pérdida importante de la función pancreática.
Creatina quinasa	Elevada en infarto de miocardio (isoenzima MB) y en afecciones musculares (isoenzima MM).
Lactato deshidrogenasa (LDH)	<ul style="list-style-type: none"> Relativamente inespecífica debido a su ubicuidad. Elevada en afecciones musculares, cardíacas, renales, hepáticas y en anemias hemolíticas.
Aminotransferasas (transaminasas)	Elevadas en enfermedades hepáticas, como hepatitis o cirrosis, y en el alcoholismo.
γ -glutamil-transferasa (γ -GT)	Elevada en enfermedades hepatobiliarias y en el alcoholismo.
Fosfatasa alcalina	Elevada en hepatopatías.
Fosfatasa ácida	Elevada isoenzima prostática en el cáncer de próstata.
Enzima convertidora de angiotensina	Elevada en el cáncer de pulmón.
Acetilcolinesterasa	<ul style="list-style-type: none"> Disminuida en hepatopatías y en infarto de miocardio. Disminuida tras la intoxicación con insecticidas organofosforados.

piruvato puede determinarse con *lactato deshidrogenasa*. La reacción catalizada es:



Puesto que NADH, pero no NAD^+ , absorbe a 340 nm (Fig. 37-1), la absorbancia de la muestra, a esta longitud de onda,

disminuirá en función del NADH consumido y, por tanto de la concentración inicial de piruvato. En los *métodos cinéticos*, se estudia la velocidad de la transformación enzimática del metabolito de interés. Si el sustrato no es saturante, la velocidad de reacción es función de su concentración (véase el Cap. 9) y es, por tanto, una medida de ésta.

37.5 TÉCNICAS INMUNOQUÍMICAS

En las técnicas inmunoquímicas, se utilizan, como reactivos, anticuerpos que permiten detectar específica y cuantitativamente la molécula a analizar, el antígeno (véase el Cap. 31). Existen muchas variantes de estas técnicas, que se diferencian por varios factores, como el tipo de marcador utilizado, el uso del anticuerpo en exceso o en defecto respecto al antígeno, o la realización de una separación previa de la mezcla problema. Por su importancia y la frecuencia de su uso, comentaremos las pruebas ELISA (prueba de inmunoabsorción ligada a enzimas), los radioinmunoanálisis y las transferencias Western.

37.5.1 Pruebas ELISA

En la versión más sencilla de las pruebas ELISA, una cantidad conocida de la muestra a analizar se sitúa sobre un soporte sólido con capacidad de absorber la molécula de

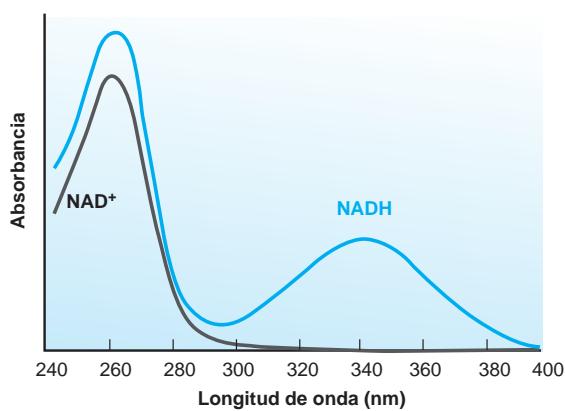


Figura 37-1. Espectros de absorción de NADH y NAD^+ . La gran diferencia en la absorbividad molar de los dos nucleótidos en la región de 340 nm permite seguir espectrofotométricamente reacciones en las que se produzca una interconversión de estos cofactores.

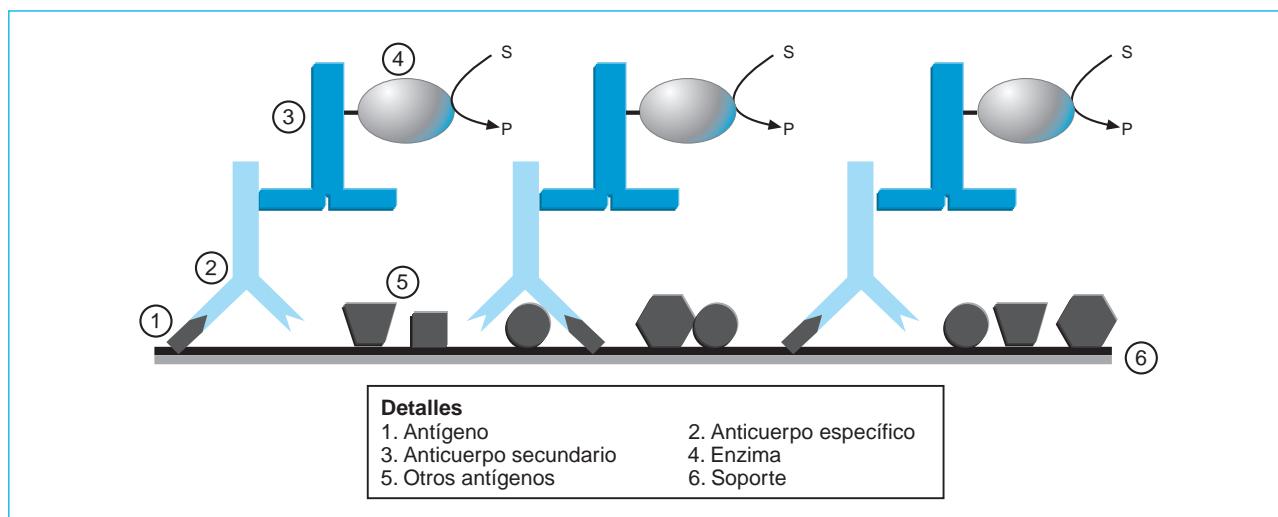


Figura 37-2. Principio de las pruebas ELISA. La sustancia a analizar se absorbe a un soporte sólido y reacciona consecutivamente con un primer anticuerpo específico y un segundo anticuerpo marcado por unión covalente de una enzima. La concentración de la sustancia problema puede deducirse de la medida de la actividad enzimática final.

interés. Posteriormente, se adiciona el anticuerpo específico (anticuerpo primario) en exceso sobre el antígeno, de forma que la cantidad de anticuerpo unida al soporte sea proporcional a la cantidad del antígeno problema. El anticuerpo primario puede estar marcado, por ejemplo, por unión covalente de una enzima, como la peroxidasa o la fosfatasa *alcalina*. Más frecuentemente, el anticuerpo primario no está modificado, pero se detecta por adición de un segundo anticuerpo marcado que lo reconozca (Fig. 37-2). Por ejemplo, si el anticuerpo primario es una IgG de conejo, el anticuerpo secundario puede ser una IgG de cabra, preparada utilizando IgG de conejo como antígeno. En cualquier caso, la cantidad de enzima unida al soporte, al final del proceso, es proporcional a la cantidad de antígeno en la muestra. La actividad enzimática puede medirse espectrofotométricamente mediante un sustrato apropiado, que se transforme en un producto coloreado. En el Recuadro 37-1 se comenta alguna aplicación del método ELISA.

37.5.2 Transferencia Western

Esta técnica es análoga a las transferencias de Southern y Northern (véase el Cap. 23), pero, en este caso, se aplica al análisis de las proteínas, en lugar de al de ADN o ARN. En la transferencia Western, una mezcla de proteínas se separa por electroforesis en geles de poliacrilamida. Normalmente la electroforesis se realiza en condiciones desnaturalizantes, en presencia de SDS (dodecilsulfato sódico), por lo que las proteínas se separan en función de su tamaño (véase el Cap.

7) y migran como bandas discretas. El gel se pone en contacto con un filtro de nitrocelulosa y el paso de las proteínas, desde el gel al filtro, se fuerza por aplicación de un campo eléctrico perpendicular al utilizado durante la electroforesis (Fig. 37-3).

Se obtiene una réplica del gel que se trata con un primer anticuerpo específico del antígeno problema y, en caso necesario, con un segundo anticuerpo marcado. Para la detección de la banda de interés, se emplea un sustrato de la enzima asociada al segundo anticuerpo, que se transforma bien en un producto coloreado e insoluble, o bien, en un producto quimioluminiscente que puede detectarse en función de su emisión de luz. La técnica Western aporta una información adicional respecto a la de ELISA, ya que el tamaño molecular del antígeno puede estimarse, por comparación de su movilidad electroforética con la de proteínas patrón de masa molecular conocida.

37.5.3 Radioinmunoanálisis

En el radioinmunoanálisis (RIA), el anticuerpo o, más frecuentemente, el antígeno, se marca con un trazador radiactivo, en vez de con una enzima. La mayor parte de los RIA se realizan en condiciones de competición, es decir, con una cantidad de anticuerpo específico menor que la necesaria para unir todo el antígeno presente en la mezcla problema. Además, se utiliza un antígeno patrón, marcado radiactivamente, que se añade a la mezcla de antígeno problema y anticuerpo, en cantidad conocida (Fig. 37-4).

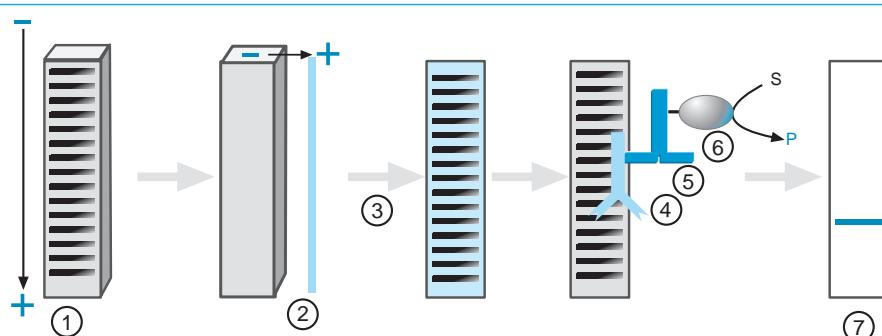
Recuadro 37-1.
**TÉCNICAS DE DETECCIÓN Y
 SEGUIMIENTO DE
 PORTADORES DEL VIRUS VIH**

Puesto que la mejor arma disponible contra el SIDA es la prevención, un aspecto esencial de la lucha contra esta enfermedad es la detección de los portadores del virus VIH, en fase lo más temprana posible tras el contagio, cuando aún no haya aparecido una sintomatología característica. Para ello se han desarrollado programas de análisis de la población de riesgo. En los protocolos mejor establecidos, el análisis se efectúa en dos fases. En primer lugar, se investiga la presencia de anticuerpos contra antígenos del VIH en la sangre del posible portador, mediante un método ELISA. Se utiliza una mezcla de antígenos recombinantes, nucleares y de envoltura, con los que se cubren los pocillos de la placa de ELISA. Luego, se añade el suero del posible portador, y si contiene anticuerpos anti-VIH, éstos

se unirán a los antígenos inmovilizados. Los anticuerpos unidos se detectan mediante una técnica de quimioluminiscencia, más sensible que las técnicas colorimétricas habituales. El empleo de una mezcla de antígenos aumenta la sensibilidad del método, pero, hasta cierto punto, disminuye su especificidad. Así, el ELISA tiene pocos *falsos negativos*, pero un número considerable de *falsos positivos*, que presentan anticuerpos reactivos, sin estar infectados por VIH. Por eso, los positivos se confirman, en una segunda fase, por transferencia de Western, que posee una mayor especificidad, al permitir determinar el tamaño molecular de la proteína reactiva.

Una vez identificados los portadores, y establecida la pauta terapéutica adecuada, es muy conveniente determinar la evolución de la *carga viral*, es decir, la concentración real de partículas virales en la sangre del paciente. Para ello, los métodos ELISA y Western no son apropiados y se recurre a la reac-

ción en cadena de la polimerasa (PCR). Se extrae ARN a partir de sangre periférica del paciente, y se sintetiza ADNc mediante retrotranscriptasa. El ADNc se amplifica por PCR, utilizando cebadores diseñados a partir de la secuencia de genes del VIH. Los cebadores deben elegirse en regiones del genoma del virus que estén muy conservadas entre las distintas cepas, de forma que puedan amplificar ADN procedente de cualquiera de ellas con una eficiencia comparable. Hasta ahora, esto se ha conseguido con varias secuencias, y han sido especialmente útiles regiones muy conservadas del gen *gag*. En condiciones bien estandarizadas, que incluyen el uso de patrones internos, la cantidad de producto amplificado obtenido puede relacionarse con la cantidad de la diana (el genoma del VIH) presente en la sangre del paciente. Al permitir un seguimiento muy preciso de la carga viral, la PCR ha sido vital para evaluar y desarrollar las estrategias terapéuticas empleadas en la actualidad.



Detalles

1. Separación electroforética en gel de poliacrilamida
2. Electrotransferencia
3. Filtro
4. Anticuerpo específico
5. Anticuerpo secundario
6. Enzima
7. Queda teñida en el filtro sólo la proteína reconocida específicamente por el anticuerpo

Figura 37-3. Transferencia Western. Las proteínas de la muestra problema se someten a separación electroforética, seguida de transferencia a un soporte sólido, forzada por la aplicación de un campo eléctrico. Posteriormente, la proteína de interés es detectada mediante un anticuerpo específico, en un proceso similar al de ELISA.

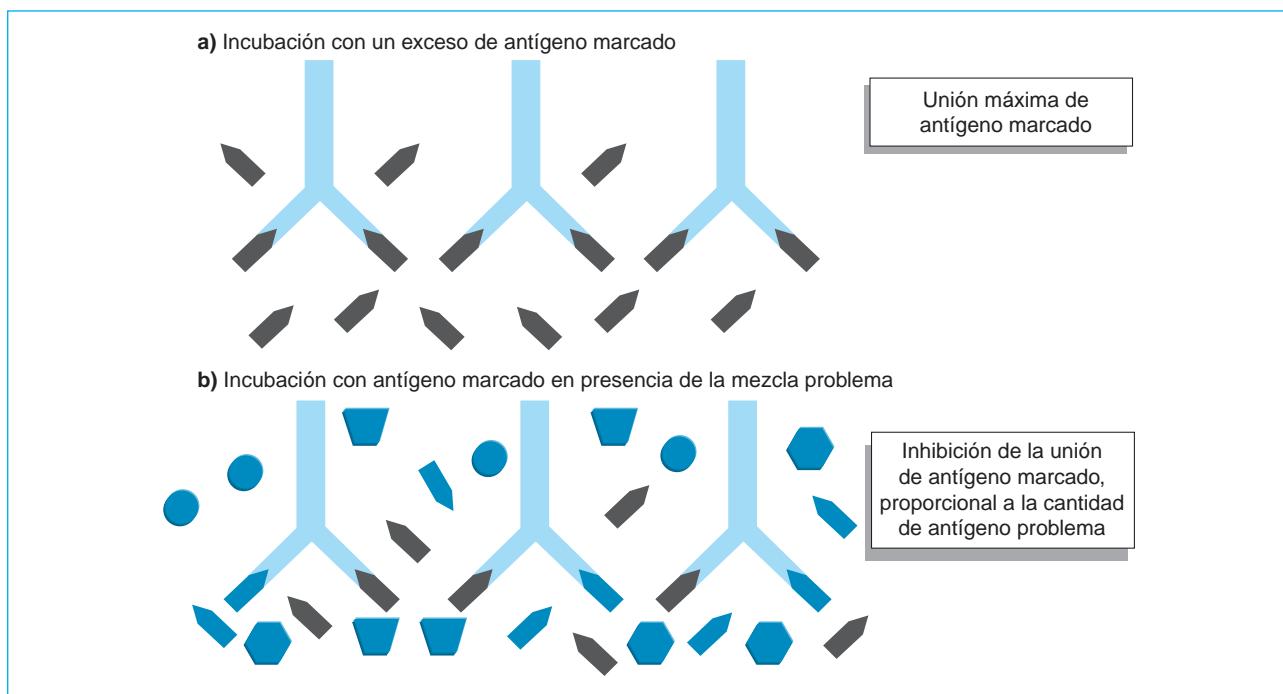


Figura 37-4. Radioinmunoanálisis. La molécula a analizar compite con un análogo marcado radiactivamente por la unión a un anticuerpo específico, que se encuentra en defecto con respecto al trazador radiactivo. El grado de desplazamiento del trazador es función de la cantidad de analito presente en la muestra problema.

Puesto que el anticuerpo específico está en defecto, el antígeno problema (no marcado), y el trazador radiactivo compiten por su unión al anticuerpo. La cantidad de radiactividad asociada a los complejos antígeno-anticuerpo, al final de la reacción, es tanto menor cuanto mayor sea la concentración de antígeno problema presente en la muestra a analizar. El RIA posee una sensibilidad muy alta, compatible con la detección de moléculas en concentraciones nanomolares o inferiores. Por ello, es la técnica de elección para la detección de hormonas o antígenos virales en mezclas complejas, como la sangre.

37.6 APPLICACIONES TERAPÉUTICAS DE LAS ENZIMAS

La capacidad catalítica de las enzimas se ha utilizado para corregir algunas situaciones patológicas. Sin embargo, el uso de las enzimas como fármacos es muy limitado debido a varias dificultades, que podrán salvarse, al menos parcialmente, mediante las técnicas de ingeniería genética descritas en el Capítulo 23. Entre los principales problemas para el uso farmacológico de las enzimas, cabe destacar:

- *La vía de administración.* Al tratarse de proteínas, la única vía de administración práctica es la endove-

nosa. La administración oral supondría la digestión proteolítica de la enzima, y otras vías no conseguirían una absorción adecuada. Una vez en la sangre, es difícil dirigir la enzima hacia el órgano diana. Por ello, los casos en los que las enzimas se han utilizado con éxito están relacionados con trastornos circulatorios o con enfermedades de las células sanguíneas.

- *Preparación de la enzima.* La obtención de grandes cantidades de la proteína con una pureza elevada compatible con su uso farmacológico exige técnicas de purificación complejas, y de coste elevado. Debe recurrirse, normalmente, a fuentes animales, lo que agrava los problemas inmunológicos comentados a continuación.
- *Desarrollo de una respuesta alérgica.* La absorción de proteínas procedentes de especies distintas provoca el desarrollo de anticuerpos por el sistema inmunitario (véase el Capítulo 31), ya que las enzimas exógenas utilizadas como fármacos actúan como antígenos. El desarrollo de anticuerpos frente a la enzima provoca respuestas alérgicas al cabo de cierto tiempo de tratamiento. En consecuencia, las enzimas están más indicadas para tratamientos cortos que para tratamientos crónicos.

A pesar de estas dificultades, algunas enzimas han encontrado utilidad terapéutica. Por ejemplo, enzimas con actividad fibrinolítica se han empleado en enfermedades vasculares, para disolver trombos o émbolos. Las más utilizadas han sido *estreptoquinasa*, en la oclusión arterial, la embolia pulmonar o el infarto de miocardio, y *uroquinasa*, en la embolia pulmonar masiva. Algunas *enzimas proteolíticas* se han utilizado en tratamientos antiedémicos, ya que su capacidad de digerir proteínas contribuye a la reabsorción del edema. *Asparraginasa* se ha empleado en el tratamiento de la leucemia linfocítica aguda. Esta enzima hidroliza la asparragina a aspartato y NH₄⁺. Puesto que la

asparragina es un nutriente esencial para algunas células tumorales, la enzima produce una deficiencia nutricional en estas células, con inhibición de la síntesis de proteínas. La *asparraginasa* provoca remisiones completas, aunque temporales, en un porcentaje elevado de pacientes de leucemia linfocítica aguda. Desgraciadamente, tras la recidiva, las células tumorales son siempre resistentes al tratamiento con la enzima.

La Bioquímica Clínica también está recibiendo el influjo beneficioso derivado de los recientes conocimientos genómicos y proteómicos. En el Recuadro 37-2 se hace referencia a algunos de ellos.

Recuadro 37-2. PROTEÓMICA CLÍNICA

La Proteómica puede definirse como el estudio global de todas las proteínas presentes en una fuente biológica determinada, incluyendo el perfil de las proteínas expresadas, su posible modificación covalente, sus interacciones y, por supuesto, su función. Los rápidos progresos que se han llevado a cabo en este campo han conducido a la Proteómica Clínica, cuyo objetivo es determinar cómo cambios en los flujos de información a nivel celular, representados por alteraciones en patrones complejos de expresión y activación o inactivación de proteínas en muestras biológicas, se relacionan con la patogenia de distintas enfermedades.

La Proteómica Clínica pretende establecer si determinados cambios en los perfiles de expresión de las proteínas son correlacionables con la aparición de la enfermedad y su progresión (y, por tanto, con el diagnóstico) o la posible respuesta del paciente a modalidades específicas de tratamiento (y, por tanto, con el pronóstico). Puesto que el cáncer es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en los países desarrollados,

y como el tratamiento de muchos tipos de cáncer sigue siendo poco efectivo, no es sorprendente que se investigue con intensidad en la posible aplicación de la Proteómica Clínica en Oncología.

Estas aplicaciones se están persiguiendo en dos direcciones. Por una parte, se está utilizando la técnica de espectrometría de masas SELDI-TOF (*surface-enhanced laser desorption and ionization time-of-flight*) para generar y comparar espectros del suero sanguíneo de individuos sanos y pacientes de cáncer. En el caso del cáncer de ovario, parece posible detectar los tumores en el estadio más precoz (estadio I), con una sensibilidad del 100% y una especificidad del 95%. Estas prestaciones son muy superiores a las del mejor de los marcadores tumorales de cáncer de ovario disponibles, el antígeno 125. La segunda dirección consiste en la utilización de micromatrizes de proteínas, que son series de micromuestras inmovilizadas en un soporte sólido, cada una con capacidad para unir una proteína determinada. Puede tratarse, por ejemplo, de anticuerpos contra proteínas, presentes en la muestra a analizar. Ésta se aplica sobre la micromatriz y en una segunda etapa se detectan y cuantifican las proteínas de la

muestra unidas, normalmente, mediante reactivos inmunoquímicos. Esta aproximación se está utilizando para detectar cambios en los niveles y estados de activación de proteínas clave en la regulación del ciclo celular, que podrían estar alteradas en los tumores. Así, uno de estos estudios demostró que la activación de la proteína Akt, una *quinasa* que promueve la supervivencia celular, es un paso crítico en la progresión del cáncer de próstata, lo que puede utilizarse con fines pronósticos y, quizás, como diana para un tratamiento racional y personalizado, mediante fármacos inhibidores de la *quinasa*, que serían útiles en pacientes cuyo tumor presentara una activación de la misma.

La aplicación a gran escala de estas tecnologías no es todavía posible, ya que se requerirá la validación exhaustiva de los reactivos inmunoquímicos y los protocolos, así como avances en microelectrónica y bioinformática que aumenten la capacidad de análisis de datos, a un coste razonable. Pero parece claro que, al menos en Oncología, la Proteómica Clínica va a ser clave para el desarrollo de estrategias terapéuticas personalizadas, más eficaces, a la vez que menos agresivas, para el paciente.

RESUMEN

- En su vertiente clínica, la Bioquímica Analítica se ocupa de la aplicación de los métodos bioquímicos de laboratorio a la prevención, el diagnóstico y el seguimiento de la enfermedad.
- Los ensayos de actividad enzimática en plasma representan del 5 a 15% de los análisis bioquímicos hospitalarios.
- La elevación de la concentración de una enzima en plasma se produce por daño en la célula productora, que determina una alteración de la permeabilidad o una ruptura de la membrana celular.
- Las medidas de actividad enzimática en suero pueden realizarse por métodos continuos o discontinuos, siempre en condiciones estandarizadas.
- Algunas actividades enzimáticas se cuantifican mediante reacciones acopladas que hacen posible el uso de técnicas espectrofotométricas.
- Las enzimas pueden emplearse también como reactivos específicos para determinar los niveles séricos de metabolitos de interés clínico.
- La especificidad y la afinidad de reacciones antígeno-anticuerpo se utilizan también para la detección de metabolitos, hormonas y antígenos en suero, mediante técnicas inmunoquímicas, como las pruebas de ELISA, la transferencia Western o el radioinmunoanálisis (RIA).
- En las pruebas de ELISA, se utilizan anticuerpos específicos unidos covalentemente a una enzima, normalmente, *peroxidasa* o *fosfatasa alcalina*. La actividad enzimática presente al final del ensayo es una medida de los niveles de la sustancia a analizar.
- En el método Western, la muestra se separa electroforéticamente, se transfiere a un soporte sólido, y se enfrenta, después, al anticuerpo marcado con una enzima. Se obtiene información acerca de la presencia o ausencia de moléculas proteicas en la muestra, así como de su tamaño.
- En el radioinmunoanálisis, se combinan la especificidad de los anticuerpos con la sensibilidad de los trazadores radiactivos. Por ello, el RIA es la técnica de elección para la cuantificación de muchas hormonas y de antígenos virales.
- Los intentos de utilizar las enzimas como fármacos han tenido un éxito limitado, debido a dificultades en la obtención de enzimas en cantidad suficiente, y problemas de administración y aparición de respuestas inmunitarias.

EVALUACIÓN

1. (B). Medidas de actividad enzimática en Bioquímica Clínica.
1. Las medidas de las actividades enzimáticas en suero representan del 5 al 15% del total de los análisis bioquímicos hospitalarios.
2. La concentración de una enzima se determina midiendo la velocidad a la que transcurre la reacción específica de dicha enzima.
3. Las medidas espectrofotométricas de las actividades enzimáticas son la técnica de elección en la práctica clínica diaria.
4. La mayoría de las situaciones patológicas se asocian con una disminución de la concentración sérica de algunas enzimas.

a b c d e

2. (C). El uso de reacciones acopladas que finalicen en la interconversión de NADH y NAD⁺ es muy común en la práctica de la Bioquímica Clínica PORQUE NAD⁺ y NADH presentan absorbancias muy diferentes a 340 nm, lo que permite determinaciones muy precisas.

a b c d e

3. (C). La determinación de la actividad de *glutamato oxalacetato aminotransferasa* en plasma es muy frecuente PORQUE su elevación indica una alteración grave de la glándula prostática.

a b c d e

4. (A). El método más conveniente para la determinación de glucosa sérica mediante el uso de enzimas se basa en:
 - a. *Glucosa oxidasa*.
 - b. *LDH + peroxidasa*.
 - c. *Glucosa oxidasa + LDH*.
 - d. *Glucosa oxidasa + peroxidasa*.
 - e. Una prueba con tres enzimas acopladas, una de las cuales es *creatina quinasa*.

a b c d e

5. (A). Indicar cuál de las siguientes enzimas ha sido utilizada en el tratamiento de la embolia pulmonar:

- a. *LDH*.
- b. *Hialuronidasa*.
- c. *Estreptoquinasa*.
- d. *Arginina descarboxilasa*.
- e. *Arginasa*.

6. (B). Aplicaciones terapéuticas de las enzimas.

1. Una de las principales vías de administración es la oral.
2. Su coste es elevado, debido a la complejidad de las técnicas de purificación.
3. Las enzimas están más indicadas en tratamientos crónicos de larga duración.
4. Las enzimas procedentes de especies animales pueden provocar reacciones alérgicas.

a b c d e

7. (A). Acerca de los métodos inmunoquímicos de aplicación clínica:

- a. Las pruebas ELISA aportan información sobre el tamaño de la proteína detectada.
- b. La transferencia de Western es muy útil para la determinación específica de metabolitos séricos.
- c. En la versión más frecuente del radioinmunoanálisis, se emplea un análogo de la molécula a analizar marcado radiactivamente, que es desplazado del anticuerpo primario por la sustancia problema.
- d. Los anticuerpos no pueden marcarse por unión covalente de proteínas enzimáticas.
- e. La transferencia de Western es una técnica más sensible y cuantitativa que el radioinmunoanálisis.

8. (C). El radioinmunoanálisis es la técnica de elección para la determinación de hormonas en sangre PORQUE la afinidad de las hormonas por sus receptores celulares es muy elevada.

a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Díaz J, Fernández de Barrio MT, Parede Salido F: *Aspectos Básicos de Bioquímica Clínica*. Díaz de Santos 1997.
- Gaw A, Cowan RA, O'Reilly D et al: *Bioquímica Clínica*. 2.^a ed. Harcourt 2001.
- González JM, Arilla E, Rodríguez-Segade M et al: *Bioquímica Clínica*. McGraw-Hill/Interamericana 1998.
- González JM, Medina Jiménez JM: *Patología Molecular*. McGraw-Hill/Interamericana 2001.
- Varcoe JS: *Clinical Biochemistry: Techniques and Instrumentation. A Practical Course*. World Scientific. New Jersey 2001.
- Walmsley RN, Watkinson LR, Cain HJ: *Cases in Chemical Pathology*. 4th ed. World Scientific. New Jersey 1999.

ASPECTOS BIOLÓGICOS Y MOLECULARES DEL ENVEJECIMIENTO

38

38.1 CONCEPTOS Y RELACIONES

El envejecimiento es un complejo proceso fisiológico, genéticamente modulado, que tiene lugar continua y progresivamente desde el nacimiento hasta la muerte de cada ser vivo. En el ser humano se traduce en un conjunto de alteraciones moleculares, genéticas, celulares, tisulares y orgánicas que afectan a su morfología, fisiología y comportamiento. El progreso del envejecimiento se asocia a una mayor propensión para enfermar y sufrir ciertos deterioros fisiológicos. Relacionados con el envejecimiento son los conceptos de esperanza de vida y longevidad.

¿Cuáles son las causas del envejecimiento? Hay quienes consideran que el envejecimiento es una consecuencia lateral no deseada de los mecanismos biológicos que afectan a la vulnerabilidad frente al cáncer. Otra perspectiva es que la evolución tiende a desfavorecer la inversión de recursos en organismos que, por su edad, ya no pueden reproducirse. Además, la selección natural no puede eliminar aquellos genes cuyos efectos perjudiciales no tienen lugar hasta bien avanzada la vida.

En cualquier caso, para comentar algunos aspectos científicos de la cuestión conviene aclarar previamente algunos significados, como los de los conceptos *esperanza de vida* y *longevidad (ciclo vital)*. El primero es el tiempo, establecido estadísticamente, que una persona de cierta edad vivirá si permanecen las mismas condiciones existentes de mortalidad (situación médica-sanitaria, hábitos de vida). Al finalizar ese período existirá un 50% de posibilidades de que haya ocurrido el fallecimiento y otro 50% de que permanezca viva. Por ello, se puede hablar de e_0 (esperanza de vida al nacer) o de e_x (esperanza de vida a los x años), y para una persona determinada que permanece viva, en cada momento, la suma de su edad y de su correspondiente esperanza de vida, se va incrementando conforme transcurre su vida. Es evidente que la esperanza de vida no depende de los condicionamientos individuales, sino de los colectivos de la población considerada y, de modo especial, de las circunstancias externas: nivel socio-económico-cultural (calidad y hábitos de vida), alimentación o cuidados médico-sanitarios.

En cuanto a la longevidad, o ciclo vital, es un parámetro que define la máxima duración posible de la vida para los

individuos de la especie considerada. Por ello, más que de los factores externos depende de los internos, de los genéticamente relacionados. En los últimos siglos y, posiblemente, ello ocurre desde la Prehistoria, la longevidad humana parece haber permanecido estable con un valor próximo a los 120 años. En contraste con ello, en poco más de un siglo la esperanza de vida se ha duplicado en muchos países y circunstancias, sobre todo los desarrollados e industrializados. Por tanto, para un enfoque biológico molecular, el término que nos interesa es el de longevidad.

Los avances científicos están abriendo nuevas e importantes perspectivas que nos están permitiendo comenzar a descubrir lo que podríamos describir como rostro molecular del envejecimiento, es decir, la naturaleza de muchos de los mecanismos que subyacen en el conjunto de las alteraciones moleculares, genéticas, celulares, tisulares y orgánicas que caracterizan al envejecimiento, lo que, antes o después, posibilitará las acciones concretas que permitan modificar la velocidad y evolución del proceso.

Más aún. Los recientes desarrollos de la Biología y Genética moleculares, el progreso del Proyecto Genoma Humano y los sucesivos pasos desde la Genética a la Genómica y Proteómica nos abren nuevos horizontes. Una primera posibilidad es la de conocer y controlar la expresión de nuestros genes. Otra, cuando lo permita el desarrollo de la Terapia Génica, la posibilidad de modificar lo más íntimo de nuestro patrimonio biológico, nuestros genes, a fin de corregir defectos o modular procesos. Otra posibilidad será la de la adecuada aplicación de la emergente Medicina Predictiva. Tras localizar los riesgos individuales de sufrir enfermedades impulsoras o asociadas al envejecimiento, antes de que sean sintomáticas, podrán tomarse medidas farmacológicas, nutritivas o de hábitos de vida que eviten o retrasen su aparición, aumentando los años de vida.

Sin embargo, hemos de partir de una importante puntuación previa: hoy por hoy, carecemos de los conocimientos que pudieran permitirnos establecer unas relaciones acertadas causa-efecto entre envejecimiento (o longevidad) y el variado conjunto de alteraciones que le acompañan y tampoco conocemos con suficiente precisión cuáles son las interrelaciones existentes entre sí para los diferentes factores bio-

lógicos y ambientales que condicionan el proceso del envejecimiento, que pudieran permitir el desarrollo de acciones antienvejecimiento eficaces.

Por ello, la única pretensión de este capítulo es la de repasar algunos niveles de aproximación al problema, así como las interrelaciones genéticas y moleculares más relacionadas con el envejecimiento y la longevidad. En el Capítulo 27 ya se vieron aspectos muy relacionados con este capítulo, concretamente el Recuadro 27-2 trataba de estrés oxidativo y muerte celular y el apartado 27.2.3 versaba sobre la senescencia celular.

38.2 NIVELES GLOBALES

38.2.1 Modelos animales

Los modelos animales pueden ser muy útiles para investigar los factores que ocasionan el envejecimiento y controlan la longevidad. Un ejemplo significativo lo constituye el gusano nematodo *Caenorhabditis elegans*. Sirvió para localizar la primera mutación genética ligada a un aumento de la longevidad y, posteriormente, se han localizado en el mismo más de 50 mutaciones que conducen a un incremento de la longevidad.

Los procesos de envejecimiento en los seres humanos y otros animales derivan en pérdidas de función. Por ejemplo, perdemos masa muscular con la edad. El problema también se puede abordar en modelos animales. Concretamente, estudios detallados de los cambios celulares que tienen lugar durante el envejecimiento del nematodo anteriormente citado han llevado a la conclusión de que, al igual que los seres humanos, sufre un progresivo deterioro muscular.

Además de las investigaciones directas sobre los mecanismos del envejecimiento, son y serán muy útiles para la comprensión y el tratamiento de las diferentes enfermedades que producen un acortamiento de los años de vida, como son las cardiovasculares o la osteoartritis.

Otra aproximación diferente es la identificación e investigación de formas animales con longevidades elevadas anómalas, comparadas con las de otros animales de tamaño y fisiologías parecidos, lo que puede ayudar a descifrar las razones de ese aumento de longevidad o enlentecimiento del envejecimiento. Así, el pequeño roedor sudafricano *Heterocephalus glaber*, es una especie de rata pelada que puede tener 100 descendientes anuales, con un tamaño semejante al del jerbo o rata del desierto, pero con una longevidad 6 veces mayor, pudiendo superar los 26 años.

38.2.2 Biomarcadores

La edad cronológica, el número de años de una persona, frecuentemente no es un buen indicador del avance del proceso

de envejecimiento. Lo ideal sería poder disponer de biomarcadores del envejecimiento. ¿Existen o se podrán desarrollar biomarcadores del envejecimiento? Se puede responder negativamente a la primera parte de la pregunta y la respuesta a la segunda parte es más compleja. En cualquier caso, la búsqueda sobre biomarcadores se ha dirigido en muy diversas direcciones: genes, hormonas, células, comportamiento, etcétera.

Existen dificultades evidentes: a) las inherentes al propio concepto de biomarcador; b) el relativo desconocimiento sobre el significado y los mecanismos del envejecimiento; c) el solapamiento entre envejecimiento y enfermedades, ambos productores de modificaciones corporales y de limitaciones en la duración de la vida.

Últimamente se ha insistido bastante que la longitud de los telómeros (véase el Cap. 18) puede ser un biomarcador potencial del envejecimiento celular. Pero la situación es compleja, ya que bastaría con señalar que el efecto de la longitud del telómero en el envejecimiento no es el mismo en las diferentes partes del cuerpo.

38.2.3 Ingesta calórica

Hace unos 70 años, en la Universidad de Cornell, se realizó el ensayo de someter a unas ratas experimentales a una dieta hipocalórica, comprobando que la longevidad de los animales se incrementaba en un 33%, pasando de los 3 a los 4 años. Desde los años 30 quedó demostrado que una dieta hipocalórica, equilibrada nutritivamente, incrementa la longevidad y prolonga el estado de buena salud, disminuyendo las enfermedades, en una amplia variedad de seres vivos ensayados, desde protozoos a arañas, peces, roedores y otros animales.

La restricción calórica, posiblemente, sea el único mecanismo que es capaz de incrementar la longevidad en un amplio rango de especies y su efecto suele interpretarse como una consecuencia, más o menos directa, de la disminución del estrés oxidativo que acompaña a los procesos metabólicos aerobios.

Las técnicas modernas de la Biología molecular, con las técnicas de micromatrices de genes, han demostrado en moscas *Drosophila melanogaster* sometidas a una dieta hipocalórica, que con el envejecimiento no se da una desregulación genética generalizada, sino que se producen cambios dinámicos específicos, aumentando o disminuyendo la expresión, en casi el 25% de todos los productos transcripcionales. Otras investigaciones relacionan los efectos de la restricción calórica a su acción sobre el sistema de señalización IGF-1 y a las alteraciones en la vía de señalización de la insulina, con una disminución de la masa grasa.

Otra aproximación es la conocida como restricción calórica mimetizada, buscando moléculas que imiten los

efectos fisiológicos de la ingesta hipocalórica, aunque se continúe realizando una ingesta calórica normal. La 2-D-desoxiglucosa (2DG) imita muchos aspectos de la restricción calórica en los animales, al bloquear alguna etapa temprana de la glicólisis, reduciendo el consumo de glucosa, con consecuencias como disminución de la temperatura corporal y del peso, menores niveles de glucosa y de insulina en el ayuno, retraso de la aparición de enfermedades asociadas con la edad (incluyendo el cáncer), mayor eficacia de la apoptosis, etcétera. Pero la 2DG presenta inconvenientes aún no solucionados, ya que ha demostrado ser tóxica para algunos animales, al superar un cierto umbral de concentración o, a veces, al ser suministrada durante largos períodos de tiempo.

38.2.4 Sistema neuroinmunoendocrino

Es conocido que el sistema inmunitario experimenta modificaciones y deterioros importantes con el envejecimiento, en un proceso denominable como inmunosenescencia, lo que favorece una mayor incidencia de infecciones, alteraciones autoinmunitarias y cánceres. Nuevamente, el problema básico es aclarar la verdadera conexión entre causa y efecto.

Uno de los aspectos futuros de mayor interés en las investigaciones sobre el papel del sistema inmunológico en el envejecimiento, es su estrecha conexión con el neurológico y el endocrino (sistema neuroinmunoendocrino), así como con la dieta y el ejercicio, existiendo un esquema de interrelaciones, en las que el envejecimiento se acelera con el estrés o el desequilibrio oxidativo (desequilibrio entre radicales oxigenados y antioxidantes). El ejercicio físico y la nutrición (antioxidantes, restricción calórica) favorecen el equilibrio oxidativo que a través del sistema neuroinmunoendocrino, logra el mantenimiento homeostático propio de la salud y favorecedor de la longevidad. Por el contrario, el desequilibrio oxidativo favorece el proceso de envejecimiento, así como el deterioro homeostático que incrementa la morbilidad y mortalidad. En el Recuadro 38-1 se comentan algunas relaciones entre hormonas y envejecimiento.

38.3 NIVEL GENÉTICO Y MOLECULAR

38.3.1 Estrés oxidativo

El metabolismo aerobio acarrea la obligada consecuencia de la formación y participación de *especies reactivas oxigenadas* (ROS), entre ellas, los radicales libres oxigenados (véase el Cap. 13). Hace casi medio siglo que se señaló que los diversos daños producidos por estos radicales podían ser no sólo causa del envejecimiento, sino de variadas enfermedades degenerativas como arteriosclerosis, cánceres y transtor-

nos por inmunodeficiencia. Sin embargo, aún nos encontramos en el inicio del proceso de comprensión de los daños oxidativos y del papel de los antioxidantes en el fenómeno del envejecimiento.

Como la reactividad de las ROS puede afectar a prácticamente todas las moléculas y localizaciones celulares, incluyendo genes y mitocondrias, no es de extrañar que el estrés oxidativo se haya convertido en el factor que subyace y se relaciona con todo el resto de factores asociados al envejecimiento. Un punto previo para aclarar sería el de por qué se producen frecuentemente diferencias importantes entre los datos obtenidos en el laboratorio, en células cultivadas, y los derivados de investigaciones epidemiológicas.

38.3.2 Apoptosis

La apoptosis o muerte celular programada es un proceso fisiológico, regulado genéticamente, que juega un papel importante en los organismos multicelulares por su participación en el mantenimiento del equilibrio necesario entre los procesos de proliferación, diferenciación y muerte celulares (véase el Cap. 27). Buena parte del conocimiento de los componentes moleculares que intervienen en la muerte celular programada y de sus respectivas funciones, se han obtenido de las investigaciones realizadas sobre el nematodo *C. elegans*, aunque, en los mamíferos también se han descubierto proteínas con funciones homólogas. En el desarrollo normal del *C. elegans*, un 12% de sus 1099 células sufren apoptosis y de los 14 genes relacionados con el proceso, dos de ellos, *ced-3* y *ced-4*, son esenciales para el proceso, mientras que el *ced-9* protege a las células supervivientes.

En los seres humanos, las proteasas *caspasas* presentan una gran homología con el producto del gen *ced-3*, y la proteína *apaf-1* (factor activador de proteasas apoptóticas) presenta homología con el producto del gen *ced-4*, mientras que las diversas proteínas *bcls* son homólogas al producto del gen *ced-9*. La función de estas proteínas en la apoptosis puede ser consultada en el Capítulo 27.

Está establecido que a lo largo del envejecimiento se produce una desregulación del proceso apoptótico, pero la estrecha relación existente entre ambos procesos por sí sola no sirve para aclarar su posible relación causa-efecto.

38.3.3 Genes

En 1990, en *C. elegans* y en la levadura *Saccharomyces*, comenzaron a identificarse genes cuyas mutaciones afectaban notablemente a su longevidad. Desde entonces se han identificado bastantes decenas de genes, en diversas especies; se han aclarado las funciones moleculares de las proteínas que codifican, y se han intentado relacionar con mecanismos ace-

Recuadro 38-1.

LAS HORMONAS «REJUVENECEDORAS»

El reclamo de la existencia de hormonas «antienvejecimiento» o «rejuvenecedoras» está muy extendido. De hecho la producción de algunas hormonas decrece pronunciadamente al envejecer. En la Figura 38-1 puede observarse este hecho, en relación con la hormona melatonina, la hormona del crecimiento (GH) y la dehidroepiandrosterona (DHEA). Por ejemplo, una persona de 60 años puede tener un 25% de la GH que tenía a los 25 años. Basándose en que la incapacidad para la síntesis de esas hormonas puede explicar ciertos deterioros biológicos asociados al envejecimiento, se suele argumentar que el suministro de estas hormonas para reponer su déficit, puede ser esencial para retardar tales deterioros e, incluso, revertirlos.

En el caso de la GH, en 1991 apareció un estudio en una importante revista médica internacional señalando que la inyección en ancianos de GH sintético tres veces a la semana, durante seis meses daba lugar a un decrecimiento de un 15% de su tejido graso, un incremento de la masa muscular del 9%, un aumento de la densidad ósea del 1.6% y del 7% en el espesor de la piel, es decir, un aparente «rejuvenecimiento» de entre 10 a 20 años. Sin embargo, posteriormente, se han ido conociendo los peligros, en ciertos casos, con importantes secuelas colaterales: producción de diabetes, artritis, otras enfermedades articulares e hipertensión; el riesgo de

acromegalia, acompañada de crecimientos anormales de manos y pies, alargamiento de orejas, de lengua y otras desfiguraciones. Todo ello puede incrementar el riesgo de mortalidad en dos o tres veces. Aparte del altísimo costo económico de los tratamientos.

En cuanto a la hormona de las glándulas suprarrenales, DHEA, los defensores de su uso argumentan que la caída en sus niveles, que ocurre hacia los 35 años, conduce a riesgos de importantes enfermedades cardíacas, cáncer, osteoporosis o Alzheimer, mientras que su suplementación mejora ciertas sintomatologías inflamatorias, la memoria y el sistema inmunitario. Sin embargo, tampoco, en el caso de DHEA, existe ausencia de efectos adversos.

En cuanto a la melatonina, la principal hormona de la glándula pineal, que

ayuda a regular los ritmos circadianos, su disminución es evidente con la edad, y su suplementación es defendida por quienes opinan que juega un importante papel antioxidante, mejorando la respuesta inmunitaria, la calidad del sueño, la liberación de GH y la longevidad. Algunos estudios pioneros realizados ya en 1988 por W. Pierpaoli, indicaron que en ciertos ratones se podía obtener un incremento del 20% en la longevidad. Sin embargo, otros científicos han indicado que los resultados sobre tales ratones no son extrapolables en absoluto a las personas.

Como siempre, el nudo gordiano consiste en la relación causa-efecto. Por ahora, entre los científicos existe división sobre la evaluación de la eficacia de la hormonoterapia sustitutoria con fines antienvejecimiento.

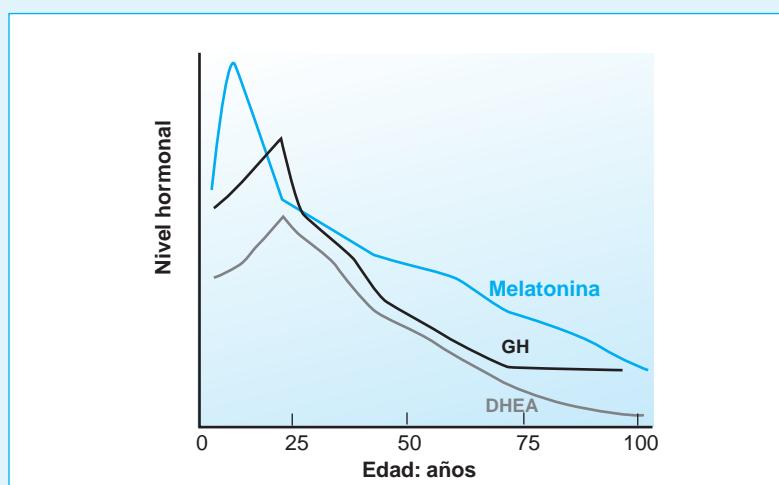


Figura 38-1. Decaimiento de los niveles plasmáticos de algunas hormonas con el envejecimiento. GH: hormona del crecimiento; DHEA: dehidroepiandrosterona.

leradores del envejecimiento, incrementadores de la longevidad o con enfermedades que, a su vez, afectan al envejecimiento o la duración del ciclo vital. En la Tabla 38-1 se resumen algunos datos al respecto, acotados temporalmente a los primeros diez años, tras el descubrimiento del primer gen relacionado con el envejecimiento.

Aunque las investigaciones genéticas sobre organismos modelos son muy importantes para permitir profundizar en los mecanismos básicos de los procesos, la investigación de

los genes homólogos en los seres humanos todavía no ha producido resultados de consecuencias prácticas.

Por otra parte, una buena parte de las enfermedades causantes de la disminución de los años de vida tiene condicionamientos poligénicos indirectos. Por ello, son estos genes de influencia indirecta, es decir, los asociados a una mayor vulnerabilidad para sufrir determinadas enfermedades, los que más puede interesar conocer en un futuro inmediato.

Tabla 38-1. Genes relacionados con el envejecimiento (1990-2001)

Gen	Organismo	Año y Función	Mutación: efecto sobre e_o
vHras	Levadura	1990-Oncogén	Modula
lag1	Levadura	1994-Camino señalizador de ceramida	+
sir2	Levadura	2000-Histona desacetilasa NAD dependiente	+
daf2	Nematodo	1995-Receptor Insulina/IGF-1	+
age1/daf23	Nematodo	1990-PI-3-quinasa	+
daf16	Nematodo	1997-Factor de transcripción	+
tkr1	Nematodo	2000-Tirosina quinasa	+
InR	Drosophila	2001-Receptor de Insulina/IGF-1	+
Chico	Drosophila	2001-Efectos de insulina	+
Mth	Drosophila	1998-Proteína transmembrana	+
Indy	Drosophila	2000-Proteína transportadora dicarboxilato	+
SOD-1	Drosophila	1999-Superóxido dismutasa Cu/Zn	+
p66shc	Ratón	1999-???	+
pit1/prp1	Ratón	2001-Participa en el desarrollo de la pituitaria	+
ghr/bp	Ratón	2000-Receptor de la hormona de crecimiento	+

e_o : esperanza de vida al nacer

Otro campo en el que se necesita profundizar y aclarar la relación que tiene con el envejecimiento, es el de los daños causados al ADN y los diferentes mecanismos específicos existentes para su reparación (véase el Cap. 19). Las evidencias experimentales muestran que las mutaciones somáticas se incrementan con la edad de un modo exponencial. Lo mismo sucede con la actividad *poli(ADP-ribosa) polimerasa* (PARP-1) (véase el Recuadro 27-2) pero, como siempre, queda sin resolver la clásica polémica de las relaciones causa-efecto (Fig. 38-2). Existen datos que apuntan a que la capacidad de reparación se relaciona con la duración del ciclo vital. También, de que los mecanismos reparativos pierden eficacia con el envejecimiento y que su participación es importante dentro de la responsabilidad global genética en el proceso. Otros datos señalan que el polimorfismo de los genes que promueven la reparación del ADN dañado puede condicionar de modo notable la eficacia de la reparación.

En las mitocondrias, con escasez de maquinarias reparadoras del ADN dañado, es donde se desarrollan los procesos básicos del metabolismo oxidativo y de la producción de ROS. Por ello, en relación con las mitocondrias y el envejecimiento, juegan un papel especial las alteraciones genéticas

de los genes nucleares que codifican a enzimas mitocondriales, especialmente las enzimas antioxidantes. También, las de los genes mitocondriales que, total o parcialmente, portan la información codificadora de importantes funciones mitocondriales, como son las correspondientes a algunos componentes de la cadena respiratoria. Además, la transmisión exclusivamente materna del ADNmtdaría podría relacionarse con el peso relativo de las herencias paterna y materna en el fenómeno del envejecimiento.

Las mitocondrias con ADNmtdaño muestran un aumento en especies ROS y alteraciones en el proceso respiratorio de obtención de la energía. El ADNmtdaño se acumula con la edad. Aunque el porcentaje de ADNmtdaño parece ser bajo (< 2%), sin embargo, existen células individuales que contienen un alto porcentaje de algunas mutaciones que, al superar un límite crítico (afectar a más del 80% del ADN), hacen aparecer el defecto bioquímico.

Como ejemplo de actuaciones genéticas realizadas en animales sobre estos aspectos y, en relación con el apartado del estrés oxidativo, se puede señalar el hecho de que ratones con genes defectivos de *superóxido dismutasa* (SOD) muestran vulnerabilidades patológicas muy parecidas a ciertas

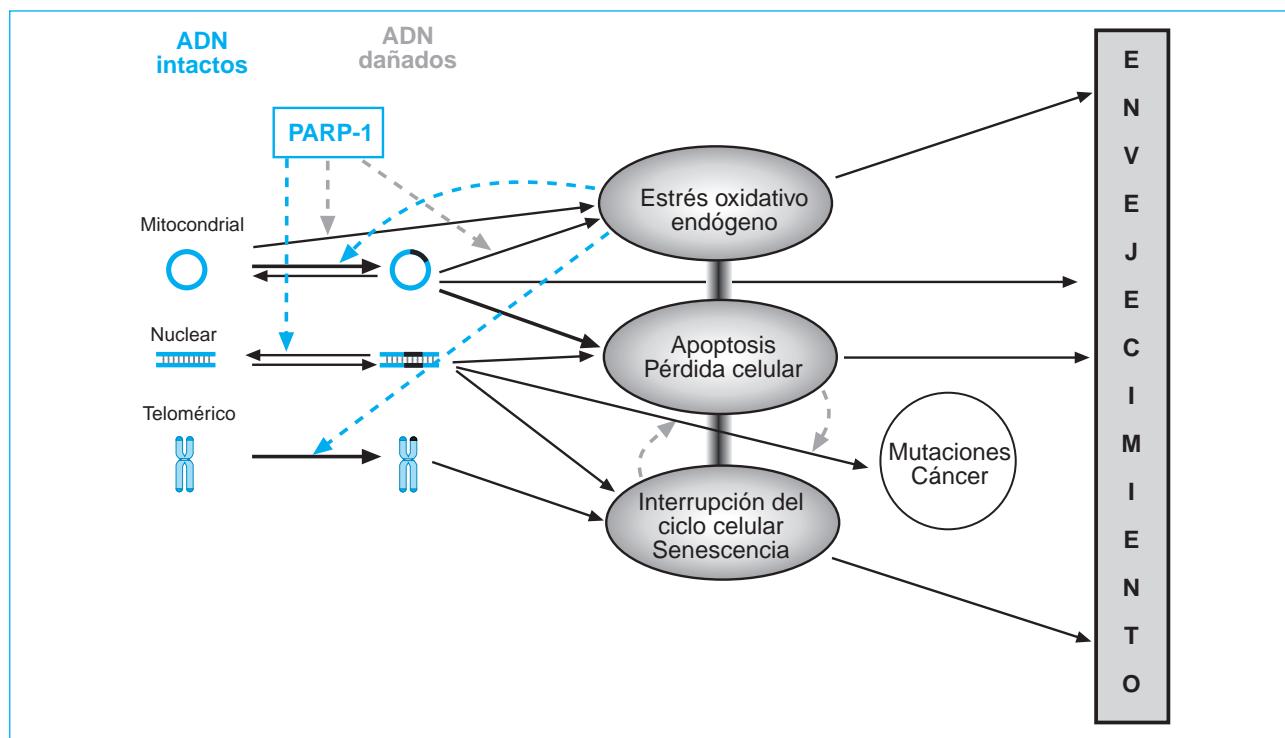


Figura 38-2. Envejecimiento y daños genéticos. Se muestran algunas posibles relaciones con procesos celulares tales como la acción de la enzima PARP-1, estrés oxidativo, la apoptosis y la detención del ciclo celular. Las flechas azules discontinuas indican activación y las grises discontinuas, inactivación.

enfermedades neurodegenerativas humanas mientras que, en *Drosophila*, la superexpresión de SOD en células nerviosas incrementa su longevidad un 40%, mientras que la eliminación de SOD produce muertes prematuras, fenómeno que desaparece si en estos modelos animales se vuelve a expresar una actividad SOD normal. Aún no se han realizado aproximaciones experimentales de este tipo en animales superiores.

En la Figura 38-2 se muestra un resumen de los diferentes procesos que afectan a las alteraciones genéticas y están relacionados con el envejecimiento o la longevidad.

38.3.4 Telómeros y telomerasa

La participación del sistema telómero/telomerasa (véase el Cap. 19) en el control del envejecimiento es uno de los temas más candentes de investigación, actualmente. La conexión entre envejecimiento y acortamiento acentuado de los telómeros es clara. Parecen existir, al menos, tres mecanismos primarios del acortamiento de los telómeros: 1) incompleta finalización de la replicación; 2) degradación de la proteína codificada por el gen hnRNP C; 3) estrés oxidativo. La relación entre ellos aún no está bien establecida, como tampoco solucionar si el factor crítico es la longitud telomérica media

o son otros factores más específicos, como la apertura de un bucle estructural que desencadena la cascada de señalización que, finalmente, conduce a la interrupción del ciclo celular.

Experimentalmente, se ha expuesto que se ha logrado conseguir la regulación de la expresión de la telomerasa en cultivos celulares humanos de modo que las células sean capaces de efectuar más de 200 divisiones celulares sin riesgos aparentes de malignizaciones, lo que algunos expertos interpretan que, extrapolado, significa que una dotación telomérica humana regulada sería suficiente para poder alcanzar los 200 años de longevidad.

Dejando aparte especulaciones, pero dentro de este apartado, lo que parece razonable desear es que se logren en el futuro aplicaciones concretas dirigidas a la prevención y el tratamiento de enfermedades relacionadas con el envejecimiento, como ciertos cánceres, con su correspondiente repercusión positiva en el aumento del valor de la esperanza de vida.

38.3.5 Sir2 y cromatina

Sir2 es una histona desacilasa, que rompe el NAD⁺ hasta nicotinamida y ADP-ribosa y simultáneamente, extrae acetilo-

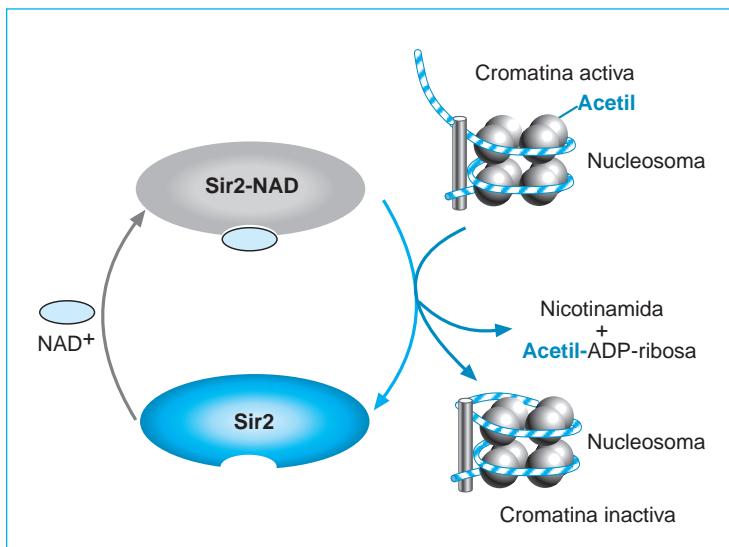


Figura 38-3. Sirtuínas y envejecimiento. Las enzimas de la familia SIR2 (silent information regulator 2) catalizan la desacilación de las histonas, usualmente de restos de lisina, como la 9 de H3 o la 16 de H4. Con ello, quedan silenciados genes relacionados con el metabolismo energético favorecedor del envejecimiento.

lo de las histonas y de proteínas relacionadas con el metabolismo energético, originando acetil-ADP-ribosa. Ello provoca que el nucleosoma se empaquete y que se inactive la cromatina, a través del silenciamiento de la transcripción genética (Fig. 38-3), con la consecuencia de la disminución de la síntesis de enzimas que incrementan el envejecimiento.

El conocimiento de los genes Sir y sus proteínas (sirtuínas) está abriendo nuevas e interesantes perspectivas biológicas, entre las que se encuentran las relativas al envejecimiento. Sir2 se encuentra presente en casi todos los seres vivos, existiendo una relación directa entre una mayor expresión de Sir2, un menor metabolismo energético y un aumento en la longevidad. Sirt1 es la versión humana de Sir2 y resulta que también p53 (gen supresor de tumores) es sustrato de Sirt1. Como, al inhibir p53 se evita la apoptosis, o la muerte celular, y se favorece la supervivencia celular en condiciones de estrés, ello abre otro nexo interesante de unión entre el envejecimiento y el cáncer.

La relación entre Sir2 y la restricción calórica se establecería porque este último proceso incrementa la producción de sirtuínas, que favorecen la conversión enzimática de acetato en acetilCoA, incrementando la respiración celular.

38.3.6 Proteasoma

La proteólisis intracelular (véase el Cap. 16) es esencial para la regulación de muchos procesos metabólicos de gran importancia: recambio proteico, degradación de proteínas alteradas, transducción de señales, tráfico de proteínas, control del ciclo celular, exocitosis, endocitosis mediada por receptor, respuestas inmunológicas y frente al estrés, o activación de la transcripción génica. Por ello, cualquier altera-

ción de las funciones proteolíticas celulares puede afectar sensiblemente, al desarrollo y la duración de la vida celular. No es de extrañar, pues, que uno de los factores característicos que acompañan al envejecimiento sea el de la acumulación de proteínas dañadas, consecuencia de la acción de los ROS en los procesos oxidativos.

Un recambio proteico adecuado es esencial para preservar las funciones celulares y, entre las diversas posibilidades de proteólisis intracelular existentes, la más importante es la de la degradación por el complejo proteasoma. La acumulación de las proteínas modificadas puede ser debida a un aumento del daño oxidativo producido por los ROS, a la pérdida de la actividad del proteasoma, o a la combinación de ambos. La pérdida de eficacia del proteasoma 26S (Recuadro 16-2) con el envejecimiento es un hecho comprobado, aunque no exista todavía un mecanismo bien delineado que aclare la base de este proceso en el que, al menos, parecen participar factores diversos, como la expresión del proteasoma, alteraciones y sustituciones de algunas de sus subunidades, etcétera.

Otras posibilidades, algunas de ellas complejas, apuntan a relacionar la disminución de la degradación proteica en la senescencia con procesos macroautofágicos y autofágicos, mediados por chaperonas, o al papel promotor de la longevidad de las proteínas de choque térmico, es decir, que responden ante una agresión, como es la HS90. Así, al menos en *Caenorhabditis elegans*, el factor de transcripción HSF-1, que regula la respuesta de choque térmico, también se relaciona con el envejecimiento, de modo que existe una relación directa entre los niveles de expresión de HSF-1 y la longevidad. Aún más: HSF-1, en compañía del factor de transcripción DAF-16, afecta al receptor daf-2-insulina/IGF-1, acti-

vando la expresión de genes específicos, entre los que se incluyen algunos que codifican a pequeñas proteínas de choque térmico, que promueven la longevidad y dificultan algunos procesos relacionados con el envejecimiento, como serían el peor funcionamiento del proteasoma o el incremento de la agregación proteína.

38.4 GENÓMICA Y ENVEJECIMIENTO

Aunque aún se discute sobre el papel respectivo de los genes y del ambiente sobre el envejecimiento, la duración de la vida y la longevidad de los individuos, no hay duda de que, a nivel celular, la longevidad está determinada genéticamente de modo muy importante. Las consecuencias del Proyecto Genoma Humano, con un conocimiento más profundo de los genes de los seres vivos a lo largo de la escala biológica, ya están comenzando a dar resultado, en relación con la posibilidad de incrementar la longevidad. En *Caenorhabditis elegans*, por ejemplo, la modificación de los genes daf-2 y daf-16, relacionados con la vía de la señalización de la insulina ha conseguido aumentar la longevidad del nematodo entre 2 y 5 veces. Y, en la mosca *Drosophila*, una mutación del conocido como gen Matusalén se tradujo en un aumento del 35% de su longevidad. Previamente, se ha comentado que se han identificado más de medio centenar de mutaciones genéticas en *C. elegans*, todas las cuales conducen a un incremento de la longevidad.

Sin duda, los seres humanos poseemos estructuras genéticas mucho más complejas que las de los organismos anteriores, pero no podemos olvidar que una de las principales enseñanzas del Proyecto Genoma Humano es que compartimos gran parte de nuestros genes con otras formas inferiores de vida.

38.4.1 Objetivos genómicos

Conocer y controlar los mecanismos básicos que regulan el envejecimiento y la longevidad es una, sin duda muy importante, de las innumerables metas biológicas de la Genómica o de la Proteómica. Pero, para poder actuar precisamente sobre procesos biológicos complejos como el envejecimiento y la longevidad, parcialmente determinados genéticamente, será necesario que antes se produzcan algunos grandes avances básicos genómicos en varias direcciones: a) la identificación de componentes estructurales y funcionales codificados del genoma humano; b) el conocimiento detallado de la organización de las redes genéticas y de las vías proteíni-

cas, aclarando cómo contribuyen a los fenotipos de las células y los organismos. Las interconexiones e influencias entre los complejos sistemas de genes y proteínas son muchos más complejas que los problemas hasta ahora abordados por la Bioquímica o la Biología Molecular; c) una comprensión precisa de la variación heredable en el genoma humano, en relación con los polimorfismos de los nucleótidos simples; d) el desarrollo de sistemas que permitan interpretar y aclarar las participaciones genéticas y no genéticas en las enfermedades y los procesos degenerativos; e) el descubrir los sistemas de identificación de variantes genéticas que contribuyan a una mejor salud y resistencia frente a la enfermedad, lo que, en el caso que nos ocupa, significaría un freno al envejecimiento, así como una mayor longevidad; f) desarrollar aproximaciones genómicas encaminadas a la predicción de la susceptibilidad a deterioros y enfermedades y, también, de la respuesta individualizada a los medicamentos; g) aplicar los conocimientos que se adquieran para desarrollar nuevos y potentes agentes terapéuticos que frenen el proceso del envejecimiento.

En cuanto a la terapia celular, con el uso de células progenitoras o madre, las enfermedades neurodegenerativas empiezan a ser objetos preferentes de técnicas de terapia celular y ello guarda una estrecha relación con el envejecimiento, ya que, en el sistema nervioso central, el envejecimiento está asociado a una progresiva pérdida de función, que se ve incrementada en los trastornos neurodegenerativos, como las enfermedades de Parkinson y Alzheimer.

38.4.2 Clonaciones y terapia génica

Dejando aparte los aspectos éticos, un factor positivo respecto al futuro de las técnicas de clonación para obtener células o tejidos aptos para implantar o sustituir a otros dañados por el propio envejecimiento o por enfermedades asociadas al mismo, es el hecho de que el límite de Hayflick de divisiones celulares para los cultivos primarios celulares (unas 40 divisiones), puede ser anulado a través de la clonación por transferencia nuclear, aunque se usen células seniles como donantes nucleares. Si se utiliza una línea celular receptora, y células donantes escogidas a diferentes edades y con variadas capacidades proliferativas, el resultado de la generación de nuevas líneas celulares, obtenidas de los correspondientes fetos y animales clónicos es que estas líneas rederivadas poseen la misma capacidad proliferativa y velocidad de acortamiento telomérico que la línea celular primaria inicial.

RESUMEN

- El envejecimiento es un proceso fisiológico, genéticamente modulado, que tiene lugar continua y progresivamente desde el nacimiento hasta la muerte de cada ser vivo. En el ser humano se traduce en un conjunto de alteraciones moleculares, genéticas, celulares, tisulares y orgánicas, por lo que el conocimiento de las relaciones de las alteraciones metabólico-genéticas con el envejecimiento es un requisito previo para cualquier actuación posterior.
- Aunque a veces se confunden, los términos esperanza de vida y longevidad (ciclo vital) son diferentes y es éste último el que más interesa, desde el punto de vista biológico, ya que el primero es más dependiente del entorno socio-sanitario. Existe una relación muy estrecha entre envejecimiento y longevidad que impide establecer matices entre los factores que condicionan a ambos procesos.
- Estos condicionantes pueden clasificarse en diversos niveles. En el nivel global, diversos modelos animales están proporcionando información muy útil respecto a los mecanismos del envejecimiento. Sin embargo, la inexistencia de biomarcadores válidos del proceso es una dificultad evidente.
- La restricción calórica, posiblemente, sea el único mecanismo capaz de incrementar la longevidad en un amplio rango de especies y su efecto suele interpretarse como una consecuencia, más o menos directa, de la disminución del estrés oxidativo que acompaña a los procesos metabólicos aerobios.
- El estrés oxidativo es un nexo de relación entre todos los aspectos genético-moleculares que afectan al envejecimiento.
- Uno de los condicionantes más importantes es el de la apoptosis, cuya desregulación corre paralela al envejecimiento.
- Los genes modulan todo el proceso del envejecimiento y está establecido que las mutaciones somáticas se incrementan exponencialmente con la edad, mientras que los mecanismos de reparación del ADN pierden eficacia. Dado el ambiente oxidativo mitocondrial y la menor capacidad de reparación de los daños del ADN mitocondrial, durante el envejecimiento se produce una acumulación importante de ADNmt dañado.
- La participación del sistema telómero/telomerasa en el control del envejecimiento parece fuera de dudas, pero es necesario conocer más íntimamente los mecanismos de acortamiento de los telómeros para poder establecer hipótesis adecuadas al respecto.
- El interesante sistema enzimático Sir2 inactiva la transcripción genética de zonas que expresan enzimas relacionadas con un mayor metabolismo energético y con un incremento en la velocidad del proceso del envejecimiento.
- La pérdida de eficacia del proteasoma 26 S con el envejecimiento está bien establecida, así como su relación con otros factores relacionados con este proceso.
- La genómica y la proteómica ofrecen esperanzas para que en el futuro se puedan establecer con más claridad las relaciones causa-efecto, entre los diversos factores biológicos implicados y el envejecimiento.

EVALUACIÓN

1. (A). El envejecimiento está modulado esencialmente por:
- Sólo genes.
 - Sólo factores ambientales.
 - Genes y factores ambientales.
 - El azar.
 - Nada de lo anterior
- humana PORQUE el nematodo y el ser humano poseen un número de genes muy parecido.
- a b c d e
2. (B). Conceptos:
- La esperanza de vida es un concepto cuantitativamente invariable con el tiempo.
 - La longevidad nos indica, en el momento de su nacimiento, los años que va a vivir una persona.
 - La esperanza de vida y la longevidad han de coincidir cuantitativamente.
 - La longevidad humana ha aumentado notablemente en el último siglo.
- a b c d e
3. (C). Los estudios genéticos sobre *Caenorhabditis elegans* son valiosos para las investigaciones sobre la longevidad
4. (A). Envejecimiento:
- Se han descubierto varios biomarcadores que pueden indicar la edad biológica real de un individuo
 - La restricción calórica incrementa la vida en los pequeños animales, pero no en los mamíferos
 - Es aconsejable universalmente, a partir de los 35 años, el uso de terapias hormonales sustitutorias que frenen el envejecimiento.
 - El estrés oxidativo es, particularmente, intenso en las mitocondrias.
 - La apoptosis se incrementa muy reguladamente a lo largo del proceso del envejecimiento.
5. (B). Factores implicados en el envejecimiento humano:
- Acortamiento de los telómeros.
 - Enzima Sirt1.
 - Proteasoma.
 - Proteínas de choque térmico.
- a b c d e

BIBLIOGRAFÍA

- Brownlee M, Cerami A, Vlassara H: Glucosa y envejecimiento. *Inv y C* 1987; julio: 52-59.
- Denu JM: Linking chromatin function with metabolic networks: Sir2 family of NAD⁺-dependent deacetylases. *TiBS* 2003; 28: 41-48.
- Holliday R: Aging and the biochemistry of life. *TiBS* 2001; 26: 68-71.
- Lane MA, Ingram DK, Roth GS: Restricción calórica mimetizada. *Inv y C* 2002; octubre: 6-13.
- Lozano JA: Perspectiva biológica sobre el futuro de la longevidad. *Longevidad. Tratado integral sobre salud en la segunda mitad de la vida.* Panamericana 2004; 17-28.
- Miquel J: Teorías del envejecimiento biológico. *Longevidad. Tratado integral sobre salud en la segunda mitad de la vida.* Panamericana 2004; 46-54.
- Rose MR: ¿Podemos retrasar el envejecimiento? *Inv y C* 2000; enero: 60-65.
- Rovner SL: Defying aging. *C & EN* 2004; august: 30-35.
- Weindruch R: Restricción calórica y envejecimiento. *Inv y C* 1996; marzo: 12-19.
- Zglinicki T: Oxidative stress shortens telomeres. *TiBS* 2002; 27: 339-344.

ORIGEN DE LA VIDA Y EVOLUCIÓN BIOQUÍMICA

39.1 APARICIÓN DE LA VIDA

La Tierra se formó hace unos 4600 millones de años y para responder a la pregunta del momento de la aparición de los primeros seres vivos habría que definir primeramente la naturaleza de éstos. Simplificando, sus principales características de las que emanan el resto, son sus capacidades de replicación, mutación y evolución, derivadas de su contenido en los adecuados ácidos nucleicos adecuados. Una segunda cuestión será la de los mecanismos mediante los cuales pudo iniciarse la vida y el tercer aspecto a considerar es el de las grandes líneas evolutivas que nos han conducido, desde esos comienzos, a la complejidad y variedad de los organismos actuales (Fig. 39-1).

En todo caso, las formas más primitivas de vida, microorganismos unicelulares, comenzaron a existir muy pronto tras la formación de la Tierra. Su rastreo se puede abordar, actualmente, mediante la investigación de las bioseñales que dejaron en las rocas antiguas:

- Relación isotópica carbono 12/carbono 14, ya que una tasa superior a la presente en materiales no biológicos indica la conversión de dióxido de carbono en material celular. Los vestigios más antiguos estudiados y aceptados corresponden a las señales dejadas en unas rocas del noroeste de Australia hace unos 3700 millones de años.
 - Relación isotópica azufre 32/azufre 34, pues, también, en este caso, una tasa superior a la existente en los materiales no biológicos, es indicio del uso de H_2S y otros compuestos azufrados como fuente de energía en los microorganismos. Aunque existen hallazgos que parecen corresponder a una antigüedad de 3500 millones de años, los más fiables se remontan a 2500 millones de años.
 - Moléculas orgánicas complejas semejantes a las de las células vivas actuales. Se han hallado moléculas de hidrocarburos, derivadas de membranas celulares fosilizadas correspondientes a células eucarióticas en rocas de unos 2700 millones de años de antigüedad.
-

Figura 39-1. Esquema global de los procesos evolutivos.

- Estromalitos. Son formaciones estratificadas y abovedadas construidas por colonias de microorganismos. Los representantes más antiguos verificados datan de hace unos 3500 millones de años, en túmulos fosilizados del noroeste de Australia.
- Microfósiles o restos de antiguas células vivas. Las mejor verificadas corresponden a *cianobacterias* de hace unos 2000 millones de años, halladas en Canadá.

La conclusión general es la de que hace unos 3700 millones de años comenzaron a aparecer sobre la Tierra unas formas muy primitivas de vida.

39.2 CÓMO APARECE LA VIDA. ESTUDIOS EXPERIMENTALES

Darwin, en una carta escrita en 1872, señalaba que el principio de continuidad hacía posible que el comienzo de la vida en la Tierra pudiese ser considerado como una parte o una consecuencia de alguna ley general. Efectivamente, hoy es aceptado universalmente en el mundo científico que en la Tierra primitiva tuvo lugar un proceso de evolución química gradual que condujo, progresivamente, hasta la generación de vida primordial en etapas de complejidad creciente, no de forma repentina, como defendían los partidarios de la generación espontánea.

Una vez formado nuestro planeta, las condiciones geológicas imperantes hicieron que los impactos de los meteoritos mantuvieran estéril su superficie durante unos 500 millones de años. Sin embargo, unos cientos de millones de años más tarde ya existía una portentosa vida microscópica. ¿Cómo se inició a partir de los sencillos gases existentes?

La combinación de elementos biogénicos para producir moléculas es un fenómeno bastante universal y, desde 1968, existen múltiples pruebas de que ello ocurre en nuestra galaxia, habiéndose localizado más de 100 moléculas diferentes, entre ellas, un polímero, el cianopentaacetileno. Ello abrió una puerta a otra posibilidad: la de la colaboración de moléculas orgánicas procedentes de planetas y satélites de nuestro sistema solar, en el proceso de iniciación de la vida sobre la Tierra. Con estudios estadísticos de las colisiones existentes en aquel remoto tiempo entre los cometas y la Tierra, se ha calculado que aportaron a nuestro planeta unos 10^{22} g de materia carbonada. Una diferente aportación espacial puede ser la de los meteoritos carbonados, que contienen cantidades importantes de compuestos orgánicos con un alto grado de evolución bioquímica (hidrocarburos, aminoácidos, purinas, pirimidinas). Otra interesante posibilidad espacial consiste en que mientras el hielo que conocemos en la Tierra, con sus enlaces de hidrógeno estables, es un elemento que dificulta el

desarrollo de la vida, en el espacio, existe una forma especial de hielo amorfo que posee algunos enlaces de hidrógeno rotos por la radiación UV y que fomenta la creación de moléculas orgánicas. Algunos expertos han propuesto que muchos materiales orgánicos encerrados en este tipo de hielo pudieron llegar hasta la Tierra hace unos 4500 millones de años.

En cuanto a aproximaciones experimentales, el científico ruso A.I. Oparin, en su momento, realizó la sugerencia de que el origen de la vida es un proceso lento y escalonado de la evolución química, a partir de sustancias inorgánicas y orgánicas simples, altamente reducidas y que ocurrió de una forma natural en la Tierra primitiva. Por ello, abordó experimentalmente que los compuestos más simples de carbono, los hidrocarburos, pueden ser formados en el laboratorio en condiciones extremas.

El primer problema para reproducir las condiciones prebióticas de la Tierra es conocer cómo era su atmósfera primitiva. Lo desconocemos, pero, actualmente, se piensa que la situación era la de una mezcla de gases parcialmente reducidos y oxidados (sin presencia de oxígeno libre).

Las fuentes de energía más importantes en la Tierra primitiva fueron la radiación solar, las descargas eléctricas y las ondas de choque ocasionadas por las condiciones planetarias. En los estudios experimentales realizados en laboratorio, suelen usarse fuentes de energía similares: luz ultravioleta, radiaciones ionizantes y energía térmica.

De este modo, con diversas mezclas gaseosas, algunas, semejantes a las de las emanaciones volcánicas terrestres, adicionadas o no de metano y amoníaco, se han conseguido resultados de interés, como los pioneros de Miller, demostrando la formación de varios aminoácidos; los de Joan Oró, sintetizando ácidos grasos, pirimidinas, desoxirribosa, nucleótidos, desoxirribonucleótidos, así como la condensación de diferentes monómeros. También, con la ayuda de cianamida y otros catalizadores, se han sintetizado oligopeptidos, oligonucleótidos y otros compuestos bioquímicos. Asimismo hay resultados esperanzadores en la consecución de la síntesis prebiótica de macromoléculas completas de ADN y ARN.

En todo caso, el gran mérito de estos experimentos es el conceptual demostrativo de que en condiciones extremas, como las prebióticas, es posible la conversión de moléculas gaseosas simples en formas cada vez más complejas, similares a las de nuestras biomoléculas actuales.

39.3 LA EVOLUCIÓN PREBIÓTICA

Las tres materias primas que existían en la Tierra primitiva eran: el aire, el agua y las rocas. Tradicionalmente, en las explicaciones sobre el origen de la vida, suelen reservarse los papeles estelares a la atmósfera y el agua. Sin embargo, desde

hace unos años, diversos experimentos están descubriendo que la participación de los minerales pudo ser fundamental en el proceso, haciendo de moldes, recipientes, catalizadores y reactivos. Un ejemplo concreto de la acción protectora de los minerales es que mientras el aminoácido leucina en agua presurizada a 200 °C se degrada en pocos minutos, en presencia del mineral sulfuro férrico (como el que se encuentra en las fumarolas hidrotermales) la leucina permanece inalterada y con capacidad de reaccionar con otras sustancias. Otro hecho interesante es el de la quiralidad, ya que, por ejemplo, los aminoácidos presentes en la materia viva son L- y no D-. Un inicio de la explicación de esa selección puede guardar relación con el hecho de que, usando cristales de calcita, un mineral muy corriente, en una mezcla de ambos tipos de aminoácidos una cara de la calcita cargue selectivamente con L-aminoácidos, mientras que otra, lo haga con D-aminoácidos.

Aunque no conocemos los detalles particulares del proceso, la evolución prebiótica usó como punto de partida moléculas pequeñas de compuestos de carbono, nitrógeno, hidrógeno, oxígeno, azufre y fósforo, para formar las primeras unidades estructurales monoméricas de aminoácidos, azúcares, fosfatos, lípidos y nucleótidos que, procesos de polimerización posteriores, transformaron en péptidos, ácidos nucleicos, etcétera.

Un punto evolutivo crítico es el de la aparición de las primeras moléculas autorreplicantes y de las estructuras protocelulares. La aparición de los límites celulares y la adquisición de membranas son aspectos sobre los que nuestros conocimientos siguen siendo escasos, aunque ha sido investigado experimentalmente, con diversos puntos de vista, desde el modelo de coacervados de Oparin, basado en la separación de gotículas de polímeros capaces de atrapar a ciertas moléculas, el de las microesferas proteinoides que pone énfasis en el papel de las proteínas, o el de los que apoyan la hipótesis genética, que resalta el papel de los ácidos nucleicos.

En relación con el flujo de la información, durante mucho tiempo se discutió quién podría haber sido primero, el ADN o las proteínas. La idea predominante actual es la del papel esencial del ARN que, no sólo es capaz de portar y trasladar la información genética hasta la forma de ADN (transcriptasa inversa) o de proteína (traducción), sino que también presenta unas asombrosas propiedades catalíticas. Una hipótesis bastante generalizada es la de que, inicialmente, trozos pequeños de ARN podrían haber codificado a diversos oligopéptidos, favoreciendo la formación de estructuras protocelulares. Estructuras que se fueron haciendo más complejas y estables cuando el ARN pudo transcribirse inversamente en ADN, con lo que quedaban sentadas las bases para una estructura celular completa, es decir, que cumpliera los criterios que caracterizan la vida: replicación, catálisis y mutabilidad.

39.4 INICIOS DE LA EVOLUCIÓN BIOLÓGICA

Los primeros organismos primitivos para poder replicarse tenían que captar de su entorno, tanto las unidades monoméricas precisas, como los compuestos ricos en energía de hidrólisis (ATP o pirofosfatos). Por ello, fue una gran ventaja evolutiva la de desarrollar sistemas catalíticos capaces de sintetizar los componentes necesarios para su replicación, a partir de precursores más abundantes y sencillos. Sin embargo, por su costo energético, ello suponía una crisis energética.

La solución fue aprovechar el suministro de la energía inagotable del sol, la fotosíntesis, usando dadores de electrones, como el H₂S, que se transformaba en azufre y daba lugar a un flujo electrónico utilizable energéticamente de un modo semejante a como lo siguen haciendo las plantas superiores, a través de la fotofosforilación cíclica (*vease* el Cap. 13). Habían aparecido, pues, los primeros procariotas fotosintéticos. Las bacterias fotosintéticas verdes y púrpuras, que siguen realizando este proceso, suelen vivir en hábitats anaerobios como son los lodos de charcas, en las que se produce H₂S por putrefacciones.

La escasez de H₂S favoreció otro gran paso evolutivo. Consistió en la utilización del agua, pero la fotólisis del agua provocaba la liberación de oxígeno, altamente oxidante y reactivo, con lo que, además, la atmósfera reductora se fue convirtiendo paulatinamente en oxidante, hecho para el cual no estaban preparados los organismos existentes.

Por ello, los organismos aerobios surgieron como consecuencia de la evolución de los sistemas del metabolismo de la energía, desarrollando una cadena respiratoria que usase el oxígeno como agente oxidante, e inactivase su efecto tóxico, con la ventaja adicional de poder obtener una gran cantidad de energía en el proceso.

Tras ello, hace unos 1500 millones de años, la aparición de los organismos eucarióticos supuso otro gran paso evolutivo.

39.5 LA ENDOSIMBIOISIS

La hipótesis endosimbiótica fue propuesta por la científica Lynn Margulis en 1970. De acuerdo con la misma, las mitocondrias, los cloroplastos, los cilios y los flagelos habrían evolucionado a partir de procariotas.

Así, cuando una gran célula anaerobia captó en su interior a otra pequeña bacteria aerobia se produjo un proceso simbiótico de mutuo beneficio. Con el transcurso del tiempo, la célula inquilina perdió su independencia, desapareciendo parte de su información genética o transfiriéndola a la célula hospedadora que, pasó a depender del ATP producido por la célula inquilina, transformada en mitocondria de aquélla. En el caso de los cloroplastos, la propuesta sería similar.

Fuertes argumentos respaldan el origen endosimbiótico de las mitocondrias y los cloroplastos.

- El tamaño semejante de las mitocondrias y los cloroplastos con muchos procariotas actuales. Una organización y características genéticas (ADN circular, ARNs, ribosomas, etc.) muy semejantes entre mitocondrias, cloroplastos y procariotas.
- Los dos orgánulos se dividen por fisión binaria, como las bacterias y las arqueas.
- Los estudios de las secuencias genómicas de los ARNr señalan que todas las mitocondrias existentes actualmente proceden de un ancestro de la bacteria *Rickettsia prowazekii*, agente del tifus provocado por piojos.
- En los cloroplastos, las evidencias de secuencias genómicas sugieren que los de las plantas superiores y las algas verdes proceden de un solo proceso inicial endosimbiótico, siendo diferente el que dio lugar a los cloroplastos de las algas rojas y pardas.

39.6 MACROEVOLUCIÓN

La teoría moderna de la evolución nace con la publicación de la obra de Darwin, *El origen de las especies* (1859). Su explicación de la evolución por medio de la selección natural fue simple y poderosa, siendo su punto de partida la existencia de variaciones hereditarias.

La suma de procesos como mutaciones, duplicaciones de genes, transferencia lateral de genes, pequeñas inserciones y eliminaciones, inversiones y fusiones cromosómicas, transposición de elementos genéticos, etcétera, así como migraciones, derivas genéticas y selección natural, conduce a las consecuencias de la evolución. Es decir, la microevolución es la responsable de la macroevolución.

Algunos de estos procesos, como el de las mutaciones, se han tratado con anterioridad (véase el Cap. 19). Cuando, en las correspondientes cadenas de proteínas, la consecuencia producida es la sustitución de un residuo por otro, de características semejantes (p. ej., valina por isoleucina) la mutación se denomina conservativa y las cadenas proteicas homólogas suelen seguir teniendo las mismas funciones. Cuando la sustitución de un aminoácido es de uno hidrofílico por otro hidrofóbico o al contrario, puede haber modificación de función y la mutación es no conservativa.

En cuanto a la transferencia lateral de genes (TLG), hay que partir del hecho que supone la transferencia de genes o de fragmentos de genes entre organismos no relacionados. Por ello, puede ser un potente mecanismo evolutivo ya que la adquisición de un gen específico puede hacer que mejore sensiblemente la capacidad de un organismo para explotar su

entorno. Desde luego, el ejemplo de mayor trascendencia evolutiva puede relacionarse con la endosimbiosis de los cloroplastos y las mitocondrias.

La transferencia más usual de genes es la vertical, la producida entre progenitores y progenie, pero se cree que en el linaje celular más antiguo era frecuente el mecanismo de TLG. Fue a partir de ese linaje de donde se derivaron los tres dominios conocidos de los seres vivos: las bacterias, los eucariotas y las arqueas. Tras la divergencia de estos tres dominios, la intensidad de la TLG se fue reduciendo, sobre todo en los eucariotas, aunque aún parece presentarse en algún caso: el genoma de ciertos virus puede afectar al de la célula hospedadora y hacerla susceptible a la malignización o a ciertas enfermedades autoinmunitarias. Por el contrario, en los procariotas, la TLG sigue siendo un proceso activo.

El número de genes en los seres vivos más simples es de algunos centenares, mientras que se estima que los organismos más evolucionados, en particular, los vertebrados, tienen unos 30 000 genes distintos. Por lo tanto, es evidente que el aumento del número de genes ha sido un componente esencial en la evolución. Un incremento de unos dos órdenes de magnitud no puede explicarse únicamente por fenómenos de transferencia génica, por lo que se acepta que la *duplicación génica* es el principal mecanismo que ha operado a lo largo de la evolución para crear nuevos genes.

La duplicación puede afectar a genes individuales. Estas duplicaciones locales suelen dejar el nuevo gen en la vecindad del gen parental. Otras duplicaciones afectan a bloques de genes, que engloben partes considerables de un cromosoma o, incluso, cromosomas enteros. Estas *duplicaciones a gran escala*, incluyendo los poliploidismos, podrían haber sido claves en la evolución. Algunos aspectos de la organización de los genomas de varios vertebrados sugieren que las duplicaciones a gran escala podrían haber ocurrido históricamente dos veces a lo largo de la evolución temprana de los vertebrados. Así, de acuerdo con una teoría denominada «*hipótesis 2R*», los mamíferos tendrían cuatro genes diferentes procedentes de cada gen ancestral común presente en un cefalocordado.

Los genes aparecidos por duplicación se denominan *parálogos*, y existen tres posibles destinos para ellos. En muchos casos, las nuevas copias acumularían mutaciones deletéreas que ocasionarían su pérdida de función, sin que ello perjudique al organismo, ya que la función original se mantendría gracias a la otra copia. Este tipo de evolución del gen se ha denominado, a veces, *desfuncionalización*. En la *neofuncionalización*, una de las copias retiene la función, mientras que la otra queda libre para adaptarse a una nueva función. Si ésta es beneficiosa, queda preservada por la selección natural, por lo que la importancia evolutiva de este proceso es muy grande. Un tercer destino se conoce como

duplicación-degeneración-complementación o *subfuncionalización*. En este caso, los dos genes resultantes de la duplicación retienen la función original, pero ésta puede matizarse a medida que los dos genes divergen por aparición de mutaciones.

La evolución puede contemplar los cambios ocurridos a lo largo del tiempo en un mismo linaje, *anagénesis*, así como la diversificación o multiplicación del linaje a lo largo del tiempo, *cladogénesis*. Un ejemplo de este último hecho es que hace unos 10 millones de años, el ser humano, el chimpancé y el gorila pertenecesen a un linaje común.

39.7 ANÁLISIS EVOLUTIVOS

Existen diversas aproximaciones para poder realizar los estudios evolutivos. Respecto a organismos incluso extinguidos, si se conservan bien algunos registros fósiles puede ser posible realizar PCR de su material genético para compararlo con el de otras secuencias.

Partiendo de la situación actual de los organismos vivos se suelen comparar las secuencias moleculares homólogas, es decir, las que han evolucionado a partir de un antecesor común, ya que, a mayores diferencias de composición, le corresponde un mayor período de divergencia evolutiva. Si las moléculas homólogas pertenecen a especies diferentes, pero poseen funciones similares se denominan *ortólogas*, mientras que si las moléculas homólogas pertenecen a la misma especie pero, con el transcurso del tiempo, presentan funciones diferentes, se consideran *parálogas*. En todo caso, la evolución de los seres vivos suele ser representada como un árbol con ramas (dendrograma) que se van separando a medida que se alejan del tronco, que es la especie ancestral común a todos los incluidos en el árbol, cuya altura representa el paso del tiempo. La Figura 39-2 es un dendrograma obtenido con las secuencias de la β globina humana y varias moléculas homólogas de diversos linajes, pudiéndose distinguir que, en algunos casos, la aparición de nuevos genes fue consecuencia de mutaciones mientras que, en otros casos, lo fue por duplicaciones génicas. La Figura 39-3 es otro dendrograma más general, que incluye a representantes de linajes muy diferentes, obtenido mediante el estudio de las secuencias del citocromo c. En la Tabla 39-1 se indican algunas diferencias promedio de los residuos correspondientes al citocromo c de 11 especies, incluyendo, además de la humana, a otros mamíferos, insectos, aves, anfibios, peces y plantas. Se puede comprobar, comparando con la Figura 39-3, la correspondencia entre las diferencias secuenciales y la distancia evolutiva. Así, el ser humano y el chimpancé, prácticamente, tienen el mismo citocromo c y su distancia evolutiva es muy corta,

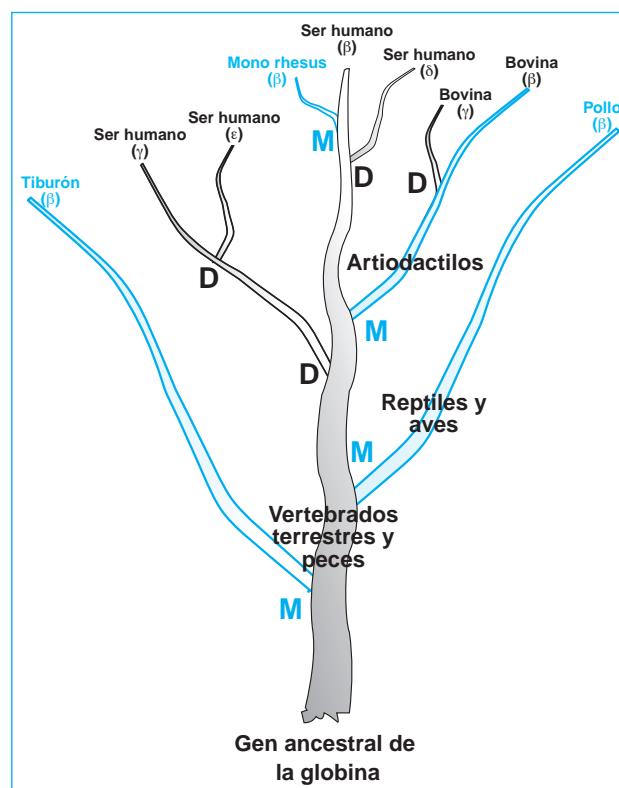


Figura 39-2. Dendrograma de la β -globina humana. D: duplicación génica; M: mutación.

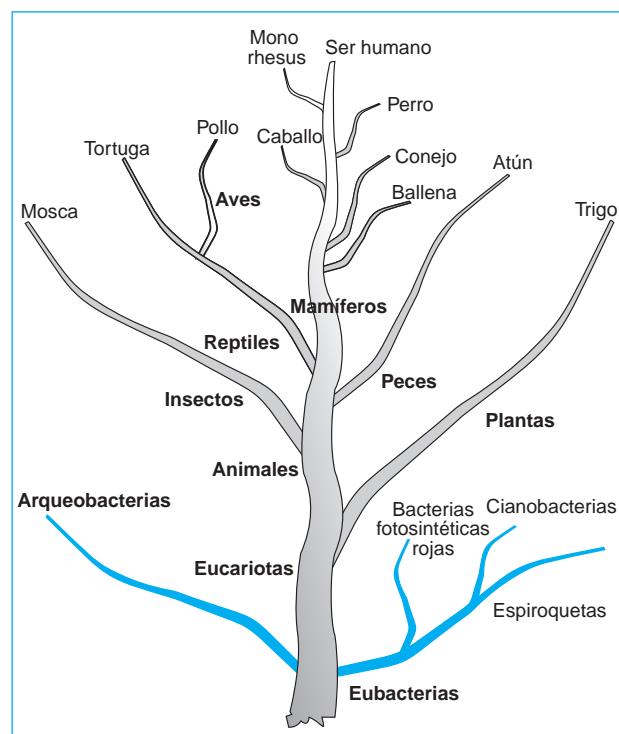


Figura 39-3. Dendrograma general del citocromo c humano.

Tabla 39-1. Diferencias promedio de residuos en el citocromo c

	<i>Ser humano</i>	<i>Mono rhesus</i>	<i>Caballo</i>	<i>Perro</i>	<i>Conejo</i>	<i>Ballena gris</i>	<i>Pollo</i>	<i>Tortuga</i>	<i>Atún</i>	<i>Mosca</i>	<i>Trigo</i>
Ser humano	–	1	12	11	9	10	13	15	21	27	43
Mono rhesus	1	–	11	10	8	9	12	14	21	26	43
Caballo	12	11	–	6	6	5	10	9	18	22	46
Perro	11	10	5	–	5	3	10	8	19	21	44
Conejo	9	8	6	5	–	2	8	9	17	21	44
Ballena gris	10	9	5	3	2	–	9	8	17	22	46
Pollo	13	12	10	10	8	9	–	–	17	23	46
Tortuga	15	14	9	8	9	8	7	–	18	24	47
Atún	21	21	18	19	17	17	17	18	–	24	49
Mosca	27	26	21	21	21	22	23	24	24	–	47
Trigo	43	43	46	44	44	46	46	47	49	47	–

inferior a los 4 millones de años. Sin embargo, con la ballena, la diferencia son 10 residuos y el ancestro común se sitúa hace 50 millones de años.

La disponibilidad actual de las secuencias de multitud de proteínas y de ácidos nucleicos en los bancos de datos biológicos, así como las potentes ayudas bioinformáticas desarrolladas para el análisis de homologías entre porciones de secuencias, están facilitando enormemente este tipo de investigaciones.

Por otra parte, en el caso de las proteínas, cada vez es mayor el número de las que se dispone de información tridimensional detallada (por difracción de rayos X u otras técnicas) con dominios y zonas de interés biológico localizadas, lo que permite su comparación evolutiva con otras estructuras tridimensionales.

Otro aspecto de interés es que se puedan recrear en el laboratorio los procesos esenciales de la evolución: mutaciones, recombinaciones y selecciones. Con ello se crean nuevas moléculas y es posible realizar en días o meses lo que en la escala temporal normal de la evolución requeriría millones de años. El Recuadro 39-1 resume el proceso de las evolución dirigida.

39.8 EVOLUCIÓN Y METABOLISMO

A efectos solamente ilustrativos se exponen a continuación algunos ejemplos que relacionan aspectos metabólicos con evolutivos.

39.8.1 Evolución y enzimología: las serina proteasas

Las serina proteasas quimotripsina, tripsina y elastasa parecen ser resultado de una evolución divergente, a partir de una proteasa ancestral, cuyo mecanismo de acción ha permanecido y la evolución ha incrementado la especificidad. Las conformaciones de las tres enzimas son casi idénticas (difracción de rayos X) y lo mismo sucede con sus mecanismos de reacción, diferenciándose levemente en unos bucles superficiales y, sobre todo, por su especificidad hacia los sustratos.

Un ejemplo relacionado es el de la subtilina, otra serina proteasa bacteriana producida por *Bacillus subtilis*, que respecto a la quimotripsina, presentaría una evolución convergente, fenómeno por el que proteínas, inicialmente no relacionadas, desarrollan una función y mecanismo de reacción común para un proceso determinado.

39.8.2 Evolución y metabolismo energético: el ciclo del citrato

Varios de los metabolitos intermedios del ciclo del citrato, como los tres cetoácidos participantes, también lo son de procesos biosintéticos de aminoácidos, por lo que se les puede suponer una gran antigüedad evolutiva. Las actuaciones de los respectivos complejos *α-cetoácidos deshidrogenasas* sobre ellos son procesos muy exergónicos que debieron ser utilizados tempranamente en el transcurso de

Recuadro 39-1. EVOLUCIÓN DIRIGIDA

Un ejemplo típico de evolución dirigida es el de la proteasa bacteriana subtilina, muy utilizada en diferentes procesos industriales, incluyendo el de aditivo en detergentes de lavadora. Partiendo de las secuencias de ADN de 26 subtilinas bacterianas diferentes, se usaron técnicas de recombinación, explorando 654 generaciones en un mes y medio, identificando 9 nuevas formas de enzimas que eran mucho más resistentes que las originales, no sólo a temperaturas altas, sino también frente a valores de pH

alcalinos o frente a diferentes compuestos desestabilizantes.

Un experimento usual de evolución dirigida podría partir de un gen parental codificador de una enzima de interés. A partir del mismo, mediante mutagénesis aleatoria, recombinación o una combinación de ambas, se crea la biblioteca de variantes. El paso siguiente consiste en insertar los genes de la biblioteca en un vector de expresión. Tras ello, los plásmidos correspondientes, conteniendo el gen que interesa, se introducen en células de levadura o de *E. coli*, de modo que cada célula receptora reciba un plásmido. Tras ello se realiza el cul-

tivo de la colección y, mediante robots adecuados, la posterior transferencia de las células a placas multipicillos, donde se expresa la enzima, se aisla y se transfiere a otras nuevas placas. En estas placas se someten las muestras de cada variedad de enzima a las condiciones selectivas que interesen (temperatura alta, disolventes, etc.), observando su comportamiento, a fin de realizar la selección automática de los mejores mutantes. Tras la identificación y extracción de estos mutantes interesantes se vuelven a usar en un nuevo ciclo de evaluación. La Figura 39-4 resume el proceso.

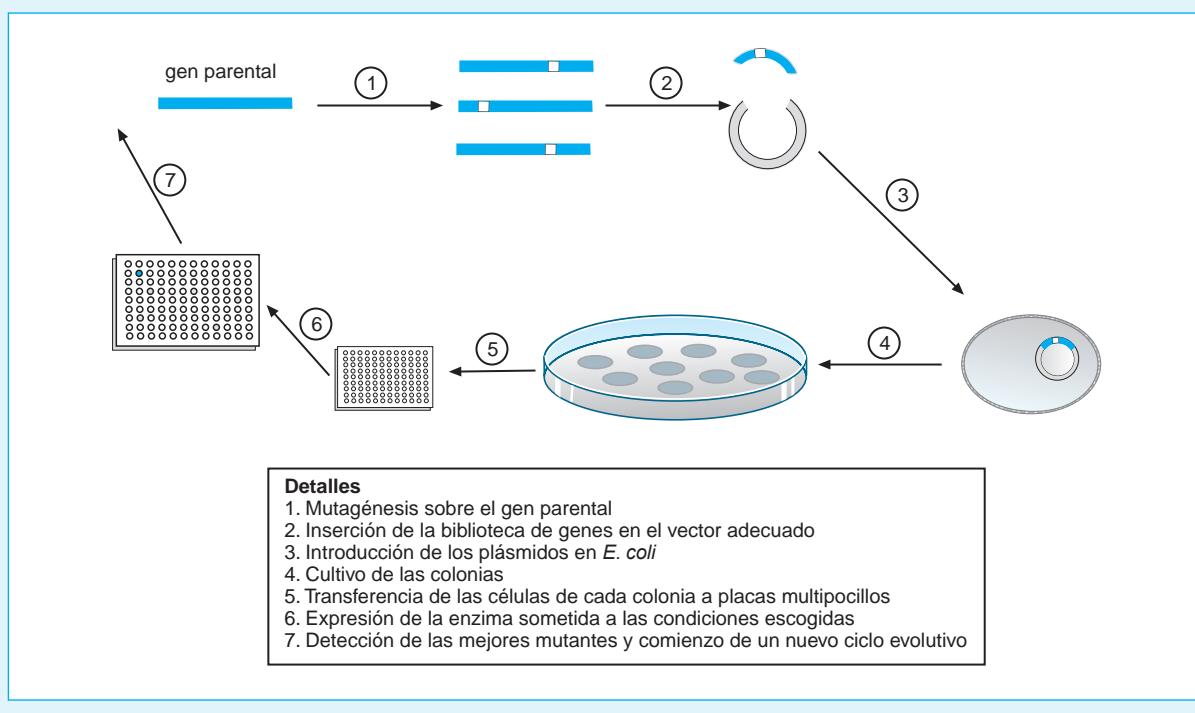


Figura 39-4. Esquema general de un proceso de evolución dirigida.

la evolución. Por otra parte, el α -cetoglutarato, mediante la *aspartato aminotransferasa* puede convertirse directamente en oxalacetato. Todo ello son indicaciones de que el ciclo del sustrato evolucionó a partir de otras transformaciones ya preexistentes y que alguno de sus precursores era un proceso cíclico con un menor número de intermediarios (p. ej., el que pasa directamente desde el α -cetoglutarato al oxalacetato).

39.8.3 Evolución y metabolismo de hidratos de carbono: glicólisis y gluconeogénesis

Los estudios de las secuencias de las enzimas implicadas en diferentes organismos permiten distinguir dos porciones definidas. La primera sería la del metabolismo de las hexosas, mientras que la segunda corresponde al metabolismo de las fracciones tricarbonadas. Las enzimas de esta última

porción que, prácticamente, es común para la glicólisis y la gluconeogénesis, posiblemente sean las más antiguas y están presentes en casi todas las especies. En ella se da el aprovechamiento energético de la fosforilación, a nivel de sustrato, un proceso evolutivo muy primitivo. Además, a partir de las triosas, mediante otras enzimas (ruta de las pentosas fosforiladas) se puede obtener la ribosa-5-fosfato, componente esencial para hacer posible el protagonismo evolutivo del ARN.

39.8.4 Evolución y metabolismo graso: la sintetasa de los ácidos grasos

La sintetasa de los ácidos grasos de los eucariotas difiere de la de los procariotas. La de los mamíferos es un dímero, en el que cada cadena está plegada de modo que forma tres dominios. Un primer dominio comprende a *acetiltransferasa*, *maloniltransferasa* y la enzima condensante, β -*cetoacilsintetasa*. El segundo dominio corresponde a la proteína portadora de acilos, la β -*cetoacilreductasa*, la *deshidratasa* y la *enoilreductasa*, mientras que el tercer dominio es el de la *tioesterasa*.

La sintetasa de los ácidos grasos es un ejemplo de complejo multienzimático eucariótico, con enzimas unidas covalentemente, con lo que se gana en eficacia operacional. Se piensa que estas enzimas multifuncionales aparecieron durante la evolución de los eucariotas por entremezclado de distintos exones, puesto que cada enzima constituyente es un homólogo muy parecido a su correspondiente enzima procariótica independiente.

39.8.5 Evolución y metabolismo nitrogenado: el ciclo de la urea

Como se ha visto en el Capítulo 16, los mamíferos poseemos dos enzimas diferentes para la *carbamoylfosfato sintetasa*, cuyas similitudes y diferencias ya se pusieron de manifiesto. La enzima de la biosíntesis pirimidínica utiliza glutamina como fuente de nitrógeno y la correspondiente hidrólisis libera amonio, que se mueve a través de la enzima por un

túnel a fin de reaccionar con el carboxifosfato. En el caso de la enzima del ciclo de la urea, que usa el amonio directamente, el dominio al que le correspondería la hidrólisis de glutamina es catalíticamente inactivo y se transforma en un lugar regulador para el activador alostérico N-acetilglutamato (sintetizado sólo si hay aminoácidos libres presentes, es decir, cuando hay que desechar algún amonio).

En cuanto a las enzimas continuadoras de los respectivos metabolismos, *ornitina transcarbamila*sa, en el ciclo de la urea, y *aspartato transcarbamila*sa, en la biosíntesis pirimidínica, sus estructuras son bastante similares, lo que indica que el inicio del ciclo de la urea fue una adaptación evolutiva del comienzo de la vía biosintética pirimidínica. Más aún, otras dos enzimas del ciclo de la urea son la arginosuccinato sintasa y la arginosuccinato liasa que resultan ser homólogas de otras dos enzimas que participan en la biosíntesis de nucleótidos, en esta ocasión purínicos, la adenilsuccinato sintasa y la adenilsuccinato liasa, respectivamente. En cuanto a la última enzima del ciclo de la urea, la *arginasa*, parece ser una enzima muy antigua evolutivamente, que está presente de forma general en los seres vivos.

39.8.6 Evolución y genética bioquímica: el código genético

genético

Durante mucho tiempo se pensó que la disposición de los 64 codones del código genético y sus significados aminoacídicos eran un producto del azar. Sin embargo, diversos estudios han demostrado que la selección natural es la que ha elegido y mantenido este orden, ya que las investigaciones y simulaciones bioinformáticas han demostrado que si se compara el código estándar con cualquiera otro posible, aquél es mucho más eficaz para poder minimizar los daños causados en los propios genes o en el proceso de traducción. Por ejemplo, los codones correspondientes a aminoácidos con un carácter hidrófilo parecido tienden a diferir en la última letra, mientras que los codones con una misma primera letra suelen codificar aminoácidos que son precursores o productos unos de otros, todo lo cual se traduce en ventajas para la supervivencia de los organismos.

RESUMEN

- Hace menos de mil millones de años, tras la formación de la Tierra hace unos 4600 millones de años, comenzaron a aparecer las formas más primitivas de vida, los microorganismos unicelulares.
- En la Tierra primitiva tuvo lugar un proceso de evolución química gradual, que condujo progresivamente desde los sencillos gases existentes hasta la generación de vida primordial, en etapas de complejidad creciente, no de forma repentina como defendían los partidarios de la generación espontánea. No es descartable el aporte extraterrestre de moléculas precursoras.
- En experiencias de laboratorio, intentando reproducir las condiciones prebióticas, se han obtenido numerosas biomoléculas, algunas de ellas bastante complejas, así como se han observado diversos modelos de autoorganización en entidades de tipo protocelular. En la evolución prebiótica parece que jugaron importantes papeles los minerales y las rocas, así como las moléculas de ARN para conformar las vías informativas y replicativas.
- Los primeros organismos primitivos eran anaerobios y para replicarse tendrían que captar del entorno la materia y energía necesarias. El perfeccionamiento evolutivo de las vías metabólicas condujo hace más de 3000 millones de años a la aparición de los organismos fotosintéticos, capaces de usar H_2S como dador de electrones.
- En el curso de la evolución biológica, tras unos quinientos millones de años, algunos organismos fotosintéticos dieron un salto evolutivo, al poder realizar la fotólisis del agua. La consecuencia era el enriquecimiento de la atmósfera en oxígeno, oxidante y tóxico. Tras, aproximadamente, otros quinientos millones de años, hace unos dos mil millones de años, se alcanzó la solución evolutiva de los seres aerobios con el desarrollo de cadenas respiratorias consumidoras del oxígeno y productoras de energía.
- La endosimbiosis de mitocondrias y cloroplastos, cuyos precursores fueron células procarióticas, permitió que hace unos 1500 millones de años apareciesen los primeros organismos eucarióticas.
- De acuerdo con las ideas de Darwin, la microevolución, es decir, la suma de procesos tales como mutaciones, duplicaciones génicas, transferencia de material genético, etcétera, junto con otros factores, entre los que destaca la selección natural, es la responsable de la macroevolución o cladogénesis.
- Las técnicas bioinformáticas y de Biología Molecular de análisis de las secuencias y estructuras de las macromoléculas permiten hacer estudios comparativos entre moléculas homólogas de los diferentes linajes, remontándose a la existencia de ancestros comunes y deduciendo los mecanismos de aparición de las nuevas variantes genéticas. Todo ello, junto a los registros paleontológicos, permite la elaboración de los dendrogramas, o árboles genealógicos evolutivos.
- Los conocimientos existentes, aplicados a aspectos concretos de grandes vías metabólicas o de procesos bioquímicos individuales, nos están comenzando a proporcionar una información valiosísima sobre el origen de los variados, sofisticados y precisos mecanismos de regulación y control que encontramos a lo largo de toda la gran variedad de los seres vivos.

EVALUACIÓN

1. (A). Las formas más primitivas de vida aparecieron sobre la Tierra hace unos:
 - a. 35 mil millones de años.
 - b. 3.7 mil millones de años.
 - c. 35 000 años.
 - d. 4.6 mil millones de años.
 - e. Ninguna de las épocas anteriores.

2. (B). La investigación de la época de aparición de las primeras formas vivientes se realiza por técnicas de:
 1. Análisis de esas formas que aún perduran en la actualidad en el fondo de los océanos.
 2. Investigación de las bioseñales dejadas en rocas, tales como la relación isotópica C12/C14.
 3. Cultivo de las cianobacterias más antiguas encontradas en Australia.
 4. Relación isotópica S32/S34 en bioseñales de las rocas.

a	b	c	d	e
---	---	---	---	---

3. (C). Las primeras formas de vida existentes en la Tierra tuvieron un origen necesariamente extraterrestre PORQUE nunca ha sido posible sintetizar biomoléculas en laboratorios que simulen las condiciones prebióticas de la atmósfera terrestre.

a	b	c	d	e
---	---	---	---	---

4. (A). Cadena respiratoria (C); endosimbiosis de mitocondrias, y cloroplastos (E); fotosíntesis con compuestos azufrados dadores de electrones (FS); Fotosíntesis con fotólisis del agua (FF). Un orden lógico de sucesos evolutivos pudo ser:
 - a. E-FS-FF-C.
 - b. E-FF-C-FS.
 - c. FS-FF-C-E.
 - d. C-E-FS-FF.
 - e. FF-C-FS-E.

5. (B). Procesos como los siguientes pueden favorecer la evolución cladogénica o macroevolución:
 1. Mutaciones.
 2. Duplicaciones de genes.
 3. Transferencia lateral de genes.
 4. Fusiones cromosómicas.

a	b	c	d	e
---	---	---	---	---

6. (C). Un dendrograma evolutivo sirve para realizar el análisis de la microevolución, pero no de la macroevolución PORQUE el dendrograma consiste en investigar la similitud de las proteínas existentes en un único tipo de organismo.

BIBLIOGRAFÍA

- Alcalde M: Evolución molecular dirigida. *Inv y C* 2003; noviembre: 69-77.
- Arnold FH, Wintrode PL, Miyazaki K *et al*: How enzymes adapt: lessons from directed evolution. *TiBS* 2002; 27: 100-106.
- Bennett C, Li M, Ma B: Cartas encadenadas e historiales de evolución. *Inv y C* 2003; agosto: 66-72.
- Blake DF, Jenniskens P: Hielo y origen de la vida. *Inv y C* 2001; diciembre: 44-49.
- Freeland SJ, Hurst LD: La evolución codificada. *Inv y C* 2004; junio: 60-67.
- Hazen RM: El origen mineral de la vida. *Inv y C* 2001; 48-55.
- Hegstrom RA, Kondepudi DK: La quiralidad del universo. *Inv y C* 1990; marzo: 58-64.
- Horgan J: Tendencias en evolución. *Inv y C* 1991; abril: 46-52.
- Jablonski NG, Chaplin G: Evolución del color de la piel humana. *Inv y C* 2002; diciembre: 56-63.
- Joy GF: Evolución molecular dirigida. *Inv y C* 1993; febrero: 22-27.
- Orgel LE: The origin of life: A review of facts and speculations. *TiBS* 1998; 23: 491-495.
- Peretó J, López-García P, Moreira D: Ancestral lipid biosynthesis and early membrane evolution. *TiBS* 2004; 29: 469-477.
- Prevosti A, Serra L: La evolución biológica, su ritmo y predicción. *Inv y C* 2000; diciembre: 4-13.
- Simpson S: Las primeras formas de vida a debate. *Inv y C* 2003; junio: 52-59.
- Stubbe J, Ge J, Yee CS: The evolution of ribonucleotide reduction revisited. *TiBS* 2002; 27: 93-99.
- Sugden B: In the beginning: a viral origin exploits the cell. *TiBS* 2002; 27: 1-3.

PARTE IV

APÉNDICES

Apéndice I: **Siglas y abreviaturas utilizadas a lo largo de este libro**

Apéndice II: **Respuestas a las evaluaciones**

Apéndice III: **Glosario de términos usados en Bioquímica y Biología Molecular**

Apéndice IV: **Algunas técnicas instrumentales en Biología Molecular y Proteómica**

Apéndice V: **Fuentes**

Apéndice VI: **Contenido del CD-ROM de acompañamiento**

SIGLAS Y ABREVIATURAS UTILIZADAS A LO LARGO DE ESTE LIBRO

I

Ac	Anticuerpo	ARNm	ARN mensajero
AcetilCoA (o AcCoA)	Acetyl coenzima A	ARNmi	ARN micro
AcilCoA	Acil coenzima A	ARNr	ARN ribosomal
ACON	Aconitato	ARNsc	ARN citosólico pequeño, del inglés <i>sc: small cytosolic</i>
ACTH	Hormona corticotrópica; corticotropina, del inglés <i>adrenocorticotrophic hormone</i>	ARNsi	ARN interferente pequeño, del inglés <i>si: small interference</i>
ACTHRH	Corticoliberina, del inglés <i>adrenocorticotropic hormone releasing hormone</i>	ARNsn	ARN nuclear pequeño, del inglés <i>sn: small nuclear</i>
AD	Enfermedad de Alzheimer, del inglés <i>Alzheimer disease</i>	ARNsno	ARN nucleolar pequeño, del inglés <i>sno: small nucleolar</i>
ADA	Desaminasa de la adenosina, del inglés <i>adenosine deaminase</i>	ARNst	ARN temporal pequeño, del inglés <i>st: small temporal</i>
ADAR	Desaminasa de adenosina de ARNm, del inglés <i>adenosine deaminase that acts on mRNA</i>	ARNt	ARN de transferencia
ADH	Hormona antidiurética, del inglés <i>antidiuretic hormone</i>	ARNv	ARN vírico o viral
ADN	Ácido desoxirribonucleico	AsT	Aspartato aminotransferasa
ADNc	ADN complementario	ATP	Adenosina trifosfato, del inglés <i>adenosine triphosphate</i>
ADNi	ADN iniciador	ATT	Alfa-1-antiproteasa, antitripsina del inglés <i>anti-trypsin</i>
ADNmt	ADN mitocondrial	AZT	3'-Azido-2',3'-didesoxitimidina, azidotimidina
ADNv	ADN vírico o viral	BAC	Cromosoma artificial de bacterias, del inglés <i>bacterial artificial chromosome</i>
ADP	Adenosina difosfato, del inglés <i>adenosine diphosphate</i>	BER	Reparación por eliminación de bases, del inglés <i>base excision repair</i>
AFP	α -Fetoproteína	BMP	Proteínas morfógenas óseas, del inglés <i>bone morphogenetic proteins</i>
AG	Ácido graso	BPG	Bisfosfoglicerato, del inglés <i>bisphosphoglycerate</i>
Ag	Antígeno	CA	Antígeno carbohidrato, del inglés <i>carbohydrate antigen</i>
AGS	Angiotensina	CaBP	Proteína transportadora de calcio, del inglés <i>calcium binding protein</i>
AGSCML	Ácidos grasos saturados de cadena muy larga	CAF	Factor de ensamblado de la cromatina, del inglés <i>chromatin assembly factor</i>
ALA	Ácido δ -aminolevulínico	CAP	Proteína activadora de genes catabólicos, del inglés <i>catabolite activator protein</i>
AIT	Alanina aminotransferasa	CBP	Proteína de unión a caperuza, del inglés <i>cap binding protein</i>
AMP	Adenosina monofosfato, del inglés <i>adenosine monophosphate</i>	CD	Grupo de diferenciación, del inglés <i>cluster of differentiation</i>
AMPc	AMP cíclico	CDK	Quinasa dependiente de ciclina, del inglés <i>cyclin dependent kinase</i>
AMPK	Proteína quinasa activada por AMP, del inglés <i>AMP dependent protein kinase</i>	CEA	Antígeno carcinoembrionario, del inglés <i>carcinoembryonic antigen</i>
AMPKK	Quinasa de la AMPK, del inglés <i>AMPK kinase</i>	αCG	α -Cetoglutarato
ANP	Factor natriurético auricular, del inglés <i>atrial natriuretic peptide</i>	CGRP	Péptido relacionado con el gen de la calcitonina, del inglés <i>calcitonin gene related peptide</i>
AP	Aminopirimidina. Apurínico. Apirimidínico	CID	Disociación inducida por colisión, del inglés <i>collision induced dissociation</i>
Apo	Apolipoproteína	CIT	Citrato
ApoE	Apoenzima E	CK	Creatina quinasa, del inglés <i>creatine kinase</i>
APP	Proteína precursora de los depósitos amiloideos, del inglés <i>amyloid precursor protein</i>	CMP	Citidina monofosfato; ácido citidílico, del inglés <i>cytidine monophosphate</i>
AQP	Acuaporinas, del inglés <i>aquaporins</i>	Copro	Coproporfirinógeno
ARN	Ácido ribonucleico	CP	Fosfato de creatina, del inglés <i>creatine phosphate</i>
ARNasa	Ribonucleasa		
ARNhn	Ácido ribonucleico heterogéneo nuclear, del inglés <i>hn: heterogeneous nuclear</i>		

CPL	Compartimento de carga de péptidos, del inglés <i>compartiment peptide loading</i>	FasL	Ligando de Fas, del inglés <i>Fas ligand</i>
CPS I	Fosfato de carbamoilo sintetasa I, del inglés <i>carbamoyl phosphate synthetase I</i>	FBP	Fructosa bisfosfato, del inglés <i>fructose bisphosphate</i>
CPS II	Fosfato de carbamoilo sintetasa II, del inglés <i>carbamoyl phosphate synthetase II</i>	Fd	Ferredoxina
CRE	Elemento de respuesta a AMPc, del inglés <i>cyclic AMP response element</i>	FE	Factor de elongación
βCS	β-Cetoacil-PTA sintasa	FGF	Factor de crecimiento de fibroblastos, del inglés <i>fibroblast growth factor</i>
CREB	Proteína de unión a CRE, del inglés <i>CRE binding protein</i>	FI	Factor de iniciación
CTD	Dominio C-terminal, del inglés <i>C-terminal domain</i>	FE	Factor de transcripción
CTP	Citidina trifosfato, del inglés <i>cytidine triphosphate</i>	FITC	Fenilisotiocianato
DAG	Diacilglicéridos	FMN	Flavina mononucleótido
dATP	Desoxiadenosina trifosfato, del inglés <i>deoxyadenosine triphosphate</i>	FRE	Factor de respuesta estricta
DBD	Dominio de unión a ADN, del inglés <i>DNA binding domain</i>	FSH	Hormona estimulante de folículos, del inglés <i>follicle-stimulating hormone</i>
DFMO	Difluormetilornitina	FSHRH	Foliberina, del inglés <i>follicle-stimulating hormone releasing hormone</i>
DHA	Ácido docosahexaenoico, del inglés <i>docosahexaenoic acid</i>	FTAmt	Factor A de transcripción mitocondrial
DHAP	Dihidroxiacetona fosfato, del inglés <i>dihydroxyacetone phosphate</i>	FTERm	Factor de terminación mitocondrial
DHCC	1,25-Dihidrocolecalciferol	FTH	Feniltiohidantoína, del inglés <i>phenyl-thiohydantoin</i>
DHEA	Dehidroepiandrosterona	FUM	Fumarato
DHFR	Dihidrofolato reductasa	G	Glucosa
DLB	Demencia con cuerpos de Lewis, del inglés <i>dementia of Lewis bodies</i>	G6P	Glucosa-6-fosfato, del inglés <i>glucose-6-phosphate</i>
DM	Distrofia muscular	GA	Gliceraldehído
dNTP	Desoxinucleósido trifosfato, del inglés <i>deoxynucleoside triphosphate</i>	GABA	Ácido gamma aminobutírico, del inglés <i>gamma-amino-butyric acid</i>
ddNTP	Didesoxinucleósido trifosfato, del inglés <i>dideoxynucleoside triphosphate</i>	GAD	Glutamato descarboxilasa
dTMP	Desoxitimidina monofosfato, del inglés <i>deoxythymidine monophosphate</i>	Gal	Galactosa
dTTP	Desoxitimidina trifosfato, del inglés <i>deoxythymidine triphosphate</i>	GAP	Proteína activadora de la GTPasa, del inglés <i>GTPase activated protein</i>
EC	Ésteres del colesterol	GDH	Glutamato deshidrogenasa
EF	Esquizofrenias	GDP	Guanosina difosfato o ácido guanílico, del inglés <i>guanosine diphosphate</i>
EGF	Factor de crecimiento epidérmico, del inglés <i>epidermic growth factor</i>	GH	Somatotropina u hormona del crecimiento, del inglés <i>growth hormone</i>
ELISA	Prueba de inmunoabsorción ligada a enzimas, del inglés <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>	GHIH	Somatostatina, del inglés <i>growth-hormone inhibiting hormone</i>
EPA	Ácido eicosapentaenoico, del inglés <i>eicosapentaenoic acid</i>	GHRH	Somatoliberina, del inglés <i>growth-hormone releasing hormone</i>
EPP	Potencial de placa terminal, del inglés <i>end plate potential</i>	GMP	Guanosina monofosfato o ácido guanílico, del inglés <i>guanosine monophosphate</i>
ER	Elemento de respuesta	GMPc	GMP cíclico
ERP	Epitelio retiniano pigmentario	GOT	Véase AsT
ESI	Ionización por electroaerosol, del inglés <i>electrospray ionization</i>	GPI	Glucosilfosfatidilinositol, del inglés <i>glucosyl phosphatidyl inositol</i>
EST	Etiquetas de secuencias expresadas, del inglés <i>expressed sequence tag</i>	GPT	Véase AIT
F	Fructosa	GRP	Péptido liberador de gastrina, del inglés <i>gastrin releasing peptide</i>
F6P	Fructosa-6-fosfato, del inglés <i>fructose-6-phosphate</i>	GTP	Guanosina trifosfato, del inglés <i>guanosine triphosphate</i>
Fab	Fragmento de unión al antígeno, del inglés <i>fragment antigen binding</i>	HAT	Acetil transferasas de histonas, del inglés <i>histones acetyl transferases</i>
FAD	Flavina adenina dinucleótido	Hb	Hemoglobina
FADD	Dominio de muerte asociado al receptor Fas, del inglés <i>Fas associated death domain</i>	Hb⁻	Hemoglobinato
FAK	Quinasa de adhesión focal, del inglés <i>focal adhesion kinase</i>	HbO₂	Oxihemoglobina
		HbO₂⁻	Oxihemoglobinato
		HCC	Hidroxicolecalciferol
		hCG	Gonadotropina coriónica humana, del inglés <i>human chorionic gonadotropin</i>

HDAC	Desacetilasa de histonas, del inglés <i>histone deacetylase</i>	LMM	Meromiosina ligera, del inglés <i>light meromyosin</i>
HDL	Lipoproteínas de alta densidad, del inglés <i>high density lipoproteins</i>	LMP	Proteasoma multifuncional grande, del inglés <i>large multifunctional protease</i>
hFGH	Factor de crecimiento de fibroblastos humano, del inglés <i>human fibroblast growth factor</i>	LT	Leucotrieno
HHb	Hemoglobina (forma ácida)	LTR	Secuencias terminales largas repetidas, del inglés <i>long-terminal repeat</i>
HHbO₂	Oxihemoglobina (forma ácida)	MAC	Complejo de ataque de membranas, del inglés <i>membrane attack complex</i>
HK	Hexoquinasa, del inglés <i>hexokinase</i>	MAG	Monoacilglicéridos
HLA	Antígeno leucocitario humano, del inglés <i>human leukocyte antigen</i>	MAL	Malato
HLH	Hélice-bucle-hélice, del inglés <i>helix-loop-helix</i>	MALDI	Matriz con desorción ionización por láser, del inglés <i>matrix-assisted laser desorption ionization</i>
HMGCoA	β -hidroxi- β -metil glutarilCoA	MAPK	Proteína quinasas activadas por mitógenos, del inglés <i>mitogen activated protein kinases</i>
HMM	Meromiosina pesada, del inglés <i>heavy meromyosin</i>	β_2-mc	β_2 -Microglobulina
HMWK	Quinino-géno de elevada masa molecular, del inglés <i>high molecular weight kininogen</i>	MHC	Complejo principal de histocompatibilidad, del inglés <i>major histocompatibility complex</i>
5-HPETE	Ácido 5-hidroxiperioxicosatetraenoico	MIA	Actividad inhibitoria del melanoma, del inglés <i>melanoma inhibitory activity</i>
HPFH	Persistencia hereditaria de la hemoglobina fetal, del inglés <i>hereditary persistence of fetal hemoglobin</i>	MLCK	Quinasa de la cadena ligera de la miosina, del inglés <i>myosin light chain kinase</i>
HPLC	Cromatografía de líquido de alta eficacia, del inglés <i>high-performance liquid chromatography</i>	MMP	Metaloproteasas de la matriz, del inglés <i>matrix metalloproteases</i>
HRE	Elemento de respuesta hormonal, del inglés <i>hormone response element</i>	MPPP	1-Metil-4-fenil-4-propionoxipiperidina, del inglés <i>1-methyl-4-phenyl-4-propionoxypiperidine</i>
HTLV	Virus linfotrópico de células T humanas, del inglés <i>human T-cell lymphotropic virus</i>	MPS	Mucopolisacaridos
IAP	Inhibidor de la apoptosis	MS	Espectrometría de masas, del inglés <i>mass spectrometry</i>
ICIT	Isocitrato	MSH	Hormona estimulante de melanocitos, del inglés <i>melanocyte stimulating hormone</i>
IDL	Lipoproteína de densidad intermedia, del inglés <i>intermediate density lipoprotein</i>	NAD⁺	Nicotinamida adenina dinucleótido (forma oxidada)
Ig	Inmunoglobulina	NADH	Nicotinamida adenina dinucleótido (forma reducida)
IGF	Factor de crecimiento similar a la insulina, del inglés <i>insulin-like growth factor</i>	NADP⁺	Nicotinamida adenina dinucleótido fosforilado (forma oxidada)
IMC	Índice de masa corporal	NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosforilado (forma reducida)
IMP	Inosina monofosfato o ácido inosínico, del inglés <i>inosine monophosphate</i>	NANA (o Neu 5Ac)	Ácido N-acetilneuramínico, del inglés <i>N-acetyl neuraminic acid</i>
Inr	Elemento de iniciación o elemento promotor alternativo, del inglés <i>initiator</i>	NCBI	Centro Nacional de Información Biotecnológica, del inglés <i>National Center of Biotechnology Information</i>
IP₃	Inositol 1,4,5-trifosfato, del inglés <i>inositol 1,4,5-triphosphate</i>	NDP	Nucleósido difosfato, del inglés <i>nucleoside diphosphate</i>
IRE	Elemento de respuesta al hierro, del inglés <i>iron response element</i>	NER	Reparación por escisión de nucleótidos, del inglés <i>nucleotide excision repair</i>
IREBP	Proteína de unión a IRE, del inglés <i>IRE-binding protein</i>	NGF	Factor de crecimiento nervioso, del inglés <i>nervous growth factor</i>
IRES	Secuencia interna de entrada del ribosoma, del inglés <i>internal ribosome entry sequence</i>	NK	Células citolíticas, del inglés <i>natural killer cells</i>
IT	Trampa iónica, del inglés <i>ionic trap</i>	NMP	Nucleósido monofosfato, del inglés <i>nucleoside monophosphate</i>
ITAM	Dominios de activación del inmunorreceptor basados en tirosinas fosforilables, del inglés <i>immunoreceptor tyrosine-based activation motifs</i>	NO	Óxido nítrico, del inglés <i>nitric oxide</i>
IUPAC	Unión internacional de Química Pura y Aplicada, del inglés <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>	NSE	Enolasa neuronal específica, del inglés <i>neuron-specific enolase</i>
LAC	Lactato	NT	Neurotransmisor
LCAT	Lecitina colesterol aciltransferasa	NTP	Nucleósido trifosfato, del inglés <i>nucleoside triphosphate</i>
LDL	Lipoproteínas de baja densidad, del inglés <i>low density lipoproteins</i>	OA	Oxalacetato
LH	Hormona luteinizante, del inglés <i>luteinizing hormone</i>	ODC	Ornitina descarboxilasa
LHRH	Luliberina, del inglés <i>luteinizing-hormone releasing hormone</i>	ODF	Factor de diferenciación de osteoclastos, del inglés <i>osteoclast differentiation factor</i>
LINE	Secuencias intercaladas largas, del inglés <i>long interspersed nuclear element</i>		

OEA	Oligonucleótido específico de alelo	PRS	Partícula de reconocimiento de la señal
OMP	Orotidina monofosfato, ácido orotídilico, del inglés <i>orotidine monophosphate</i>	PS	Fosfatidilserina, del inglés <i>phosphatidyl serine</i>
OMS	Organización Mundial de la Salud	PSA	Antígeno prostático específico, del inglés <i>prostate-specific antigen</i>
OPG	Osteoprotegerina	PT	Identificación mediante etiqueta de secuencia, del inglés <i>peptide tagging</i>
ORF	Pauta abierta de lectura, del inglés <i>open reading frame</i>	PTA	Proteína transportadora de acilos
PABP	Proteína de unión a la cola de poli(A), del inglés <i>poly(A) binding protein</i>	PTH	Parathormona u hormona paratiroides
PAGE	Electroforesis en gel de poliacrilamida, del inglés <i>polyacrylamide gel electrophoresis</i>	PTHRP	Proteína relacionada con la parathormona, del inglés <i>parathormone related protein</i>
PARP	Poli(ADP ribosa) polimerasa	QM	Quilomicrón
PBG	Porfobilinógeno	QMr	Quilomicrón remanente
PC	Piruvato carboxilasa	Rb	Proteína de retinoblastoma
PCNA	Antígeno nuclear de células proliferantes, del inglés <i>proliferating cells nuclear antigen</i>	RBP	Proteína transportadora de retinol, del inglés <i>retinol binding protein</i>
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa, del inglés <i>polymerase chain reaction</i>	RCL	Región de control del locus
PD	Enfermedad de Parkinson, del inglés <i>Parkinson disease</i>	RF	Factores proteicos de terminación
PDE	Fosfodiesterasa, del inglés <i>phosphodiesterase</i>	RIA	Radioinmunoensayo, del inglés <i>radioimmunoassay</i>
PDGF	Factor de crecimiento derivado de las plaquetas, del inglés <i>platelet derived growth factor</i>	Rib	Ribosa
PDH	Piruvato deshidrogenasa, del inglés <i>pyruvate dehydrogenase</i>	RISC	Complejo silenciador inducido por ARN, del inglés <i>RNA-induced silencing complex</i>
PDI	Proteína disulfuro isomerasa	RMN	Resonancia magnética nuclear
PEP	Fosfoenolpiruvato, del inglés <i>phosphoenolpyruvate</i>	ROS	Especies oxigenadas reactivas, del inglés <i>reactive oxygen species</i>
PEPCK	Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa, del inglés <i>phosphoenolpyruvate carboxykinase</i>	Ru	Ribulosa
Pf	Porfirina	SAM	S-Adenosilmetionina
PFK	Fosfofructoquinasa, del inglés <i>phosphofructokinase</i>	SCC	Antígeno asociado al carcinoma de células escamosas, del inglés <i>squamous cell carcinoma</i>
PG	Prostaglandinas	SDS	Sulfato de dodecilo sódico
3PG	3-fosfoglicerato, del inglés <i>3-phosphoglycerate</i>	Serpinas	Inhibidores de serina proteasas, del inglés <i>serine protease inhibitors</i>
PGI	Prostaglandina I ₂ o prostaciclina	SIDA	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
Pi	Fosfato, del inglés <i>phosphate</i>	SINE	Repeticiones intercaladas cortas, del inglés <i>short interspersed nuclear element</i>
PIP₂	1-Fosfatidilinositol-4,5-difosfato, del inglés <i>1-phosphatidyl-inosyl-4,5-diphosphate</i>	SNA	Sistema nervioso autónomo
PIP₃	1-Fosfatidilinositol-3,4,5-difosfato, del inglés <i>1-phosphatidyl-inosyl-3,4,5-diphosphate</i>	SNC	Sistema nervioso central
PIR	Piruvato	SNP	Polimorfismo de nucleótido único, del inglés <i>single nucleotide polymorphism</i>
PK	Piruvato quinasa, del inglés <i>pyruvate kinase</i>	Snurps	Ribonucleoproteínas nucleares pequeñas, del inglés <i>small nuclear ribonucleoprotein particles</i>
PKA	Proteína quinasa activada por AMPc; proteína quinasa A	STR	Repeticiones en tandem de secuencias cortas, del inglés <i>short tandem repeat</i>
PKCaM	Proteína quinasa activada por calcio-calmodulina; proteína quinasa CaM	STS	Sitios de secuencia marcadas, del inglés <i>sequence tagged site</i>
PKG	Proteína quinasa activada por GMPC; proteína quinasa G	SUC	Succinato
PMF	Huella peptídica dactilar, del inglés <i>peptide mass fingerprint</i>	SucCoA	Succinil coenzimaA
PMN	Polimorfonucleares	TAG	Triacilglicerídos
PIIINP	Propéptido aminoterminal del procolágeno III, del inglés <i>N-terminal propeptide of type III collagen</i>	TAP	Proteína asociada con procesamiento de antígenos, del inglés <i>transporter associated with antigen processing</i>
POMC	Pro-opiomelanocortina	TBP	Proteína de unión a la secuencia TATA, del inglés <i>TATA-binding protein</i>
PP (vitamina)	Ácido nicotínico o nicotinamida, del inglés <i>pellagra preventing factor</i>	TcR	Receptor antigénico de linfocitos Tc, del inglés T-cell receptor
PQ	Plastoquinona	TEA	Tetraetilamonio
PQQ	Pirrolquinolina quinona	TER	ARN de la telomerasa, del inglés <i>telomerase RNA</i>
PRG	Glicoproteína rica en prolina, del inglés <i>proline rich glycoprotein</i>	TERT	Transcriptasa inversa de la telomerasa, del inglés <i>telomerase reverse transcriptase</i>
Proto	Protoporfirinógeno		
PRPP	5-Fosforribosil-1-pirofosfato, del inglés <i>5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate</i>		

TGF	Factor de crecimiento transformante, del inglés <i>transforming growth factor</i>	TX	Tromboxano
THF	Tetrahidrofolato	UCP	Proteínas desacoplantes, del inglés <i>uncoupling proteins</i>
TIM	Complejo de translocación de la membrana interna mitocondrial, del inglés <i>translocon inner membrane</i>	UCP-1	Termogenina, del inglés <i>uncoupling protein</i>
TLG	Transferencia lateral de genes	UDP	Uridina difosfato, del inglés <i>uridine diphosphate</i>
TMP	Timidina monofosfato o ácido timidílico, del inglés <i>thymidine monophosphate</i>	UMP	Uridina monofosfato o ácido uridílico, del inglés <i>uridine monophosphate</i>
TNF	Factor de necrosis tumoral, del inglés <i>tumor necrosis factor</i>	Uro	Uroporfirinógeno
TNFR	Ligando del factor de necrosis tumoral, del inglés <i>tumor necrosis factor receptor</i>	UTP	Uridina trifosfato, del inglés <i>uridine triphosphate</i>
TOF	Tiempo de vuelo, del inglés <i>time of flight</i>	UTR	Regiones no traducidas, del inglés <i>untranslated regions</i>
TOM	Complejo de translocación de la membrana externa mitocondrial, del inglés <i>translocon outer membrane</i>	VEGF	Factor de crecimiento del endotelio vascular, del inglés <i>vascular endothelium growth factor</i>
TPA	Activador tisular de plasminógeno, del inglés <i>tissue plasminogen activator</i>	VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana
TPP	Pirofosfato de tiamina, del inglés <i>thiamine pyrophosphate</i>	VIP	Péptido intestinal vasoactivo, del inglés <i>vasoactive intestinal peptide</i>
TPS	Antígeno polipeptídico específico, del inglés <i>tissue polypeptide specific</i>	VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad, del inglés <i>very low density lipoproteins</i>
TRADD	Dominio de muerte asociado al receptor TNF, del inglés <i>tumor necrosis factor receptor associated death domain</i>	VMT	Virus del mosaico del tomate
TSH	Tirotropina, del inglés <i>thyroid-stimulating hormone</i>	VNTR	Repeticiones en tandem de número variable, del inglés <i>variable number tandem repeats</i>
TSHRH	Tiroliberina, del inglés <i>thyroid-stimulating hormone releasing hormone</i>	XMP	Xantosina monofosfato o ácido xantílico, del inglés <i>xanthosine monophosphate</i>
		Xul5P	Xilulosa-5-fosfato
		YAC	Cromosoma artificial de levaduras, del inglés <i>yeast artificial chromosome</i>

ABREVIATURAS INTERNACIONALES DE LOS AMINOÁCIDOS

Ala	A	Alanina	Glu	E	Ácido glutámico
Leu	L	Leucina	Ser	S	Serina
Arg	R	Arginina	Gln	Q	Glutamina
Lys	K	Lisina	Thr	T	Treonina
Asn	N	Asparagina	Gly	G	Glicina
Met	M	Metionina	Trp	W	Triptófano
Asp	D	Ácido aspártico	His	H	Histidina
Phe	F	Fenilalanina	Tyr	Y	Tirosina
Cys	C	Cisteína	Ile	I	Isoleucina
Pro	P	Prolina	Val	V	Valina

RESPUESTAS A LAS EVALUACIONES

||

TIPOS DE PREGUNTAS

Al final de los capítulos se proponen unas preguntas de autoevaluación, clasificadas en 3 tipos, A, B o C, tal como se indica, en cada caso, tras el número correspondiente a cada pregunta.

• Preguntas del tipo A

Se realizan 5 proposiciones (a, b, c, d, e) para que se elija la más correcta entre ellas.

• Preguntas del tipo B

Se efectúan 4 proposiciones, numeradas del 1 al 4, cuya solución corresponde al esquema:

- a. Si 1, 2, 3 y 4 son ciertas.
- b. Si 1, 2, 3 son ciertas y 4 es falsa.
- c. Si 1 y 3 son ciertas, 2 y 4 son falsas.
- d. Si 2 y 4 son ciertas, 1 y 3 son falsas.
- e. Si 1, 2, 3 y 4 son falsas.

• Preguntas del tipo C

Consisten en una frase dividida en dos oraciones separadas por la palabra PORQUE. La primera parte es una proposición y la segunda oración es una razón que intenta justificar la citada proposición.

Las respuestas corresponden a las siguientes situaciones:

- a. Tanto la proposición como la razón son ciertas y ésta justifica adecuadamente a aquélla.
- b. Tanto la proposición como la razón son ciertas, pero esta última no justifica adecuadamente a aquélla.
- c. La proposición es cierta, mientras que la razón es falsa por sí misma.
- d. La proposición es falsa, mientras que la razón es cierta por sí misma.
- e. La proposición y la razón son falsas en sí mismas.

AUTOCALIFICACIONES

Si se realizan autoexámenes de m preguntas previamente seleccionadas, un criterio a seguir puede ser el de dar 4 puntos a cada pregunta correctamente resuelta, 0 puntos a las dejadas en blanco y -1 a cada pregunta contestada erróneamente. Si, por ejemplo, hubiese x preguntas contestadas correctamente e y preguntas erróneamente contestadas, la calificación final en una escala de 0 a 10 sería:

Calificación: $10 \cdot [4 \cdot x - y] / 4 \cdot m$

Capítulo 2

Cuestión 1: b. El piruvato, que tiene un peso molecular de 88 Da, es un intermedio metabólico.

Cuestión 2: d. El manganeso (Mn) es un oligoelemento o elemento traza.

Cuestión 3: e. El carbono es un bioelemento primario que, debido a su naturaleza y a su capacidad de establecimiento de enlaces, constituye el átomo fundamental para todas las estructuras orgánicas.

Cuestión 4: b. En función de su abundancia en los seres vivos, el sodio (Na) es un bioelemento secundario.

Cuestión 5: b. El oxígeno es el único bioelemento primario que se encuentra entre los ocho más abundantes de la corteza terrestre.

Cuestión 6: a. El bioelemento sodio (Na) es un bioelemento secundario.

Cuestión 7: a. La albúmina es una proteína y, por tanto, una macromolécula; el ácido oleico es un ácido graso, que es una unidad estructural, al igual que el aminoácido leucina, aunque el ácido graso tiene mayor peso molecular; el agua es un precursor.

Cuestión 8: a. La abundancia relativa de estos elementos en el cuerpo humano, en porcentajes de átomos, es H (63%), O (25.5%), C (9.5%), N (1.4%).

Cuestión 9: d. Estos enlaces son muy estables ya que su fuerza es inversamente proporcional a las masas de los átomos unidos. Todos esos átomos, muy pequeños, también presentan una gran facilidad para compartir electrones.

Cuestión 10: e. Se trata del elemento número 7, el nitrógeno, uno de los cuatro más abundantes de las biomoléculas, pero no en la corteza terrestre.

Cuestión 11: a. Efectivamente todos estos elementos encabezan, por su pequeño tamaño, sus diferentes grupos del sistema periódico y fácilmente pueden formar enlaces estables covalentes por compartición de electrones.

Cuestión 12: a. Todo es cierto ya que los precursores poseen pesos moleculares inferiores a 50 Da, los intermedios metabólicos poseen entre 50-200 Da; las unidades estructurales, entre 100 y 300 y las macromoléculas, entre 1000 y 1 000 000 Da.

Capítulo 3

Cuestión 1: c. La hibridación sp^3 es la responsable de la estructura tetraédrica de los enlaces, que forman entre sí ángulos de 104.5° , así como también de la distribución asimétrica de la densidad electrónica, responsable del carácter de dipolo.

Cuestión 2: e. Los enlaces de hidrógeno y la asimetría electrónica de la molécula de agua ocasionan su alto punto de ebullición, su elevado calor específico, su considerable calor de vaporización y su capacidad para hidratar o solvatar iones.

Cuestión 3: e. Los enlaces de hidrógeno y su carácter dipolar hacen que el agua pueda interaccionar fuertemente con un amplio número de sustancias químicas diferentes.

Cuestión 4: c. La secreción gástrica es tan rica en protones que puede poseer un pH inferior a 2.

Cuestión 5: b. Extracelularmente existen bajas concentraciones de proteínas y fosfatos; el sistema ácido carbónico/bicarbonato es un buen regulador debido a los mecanismos respiratorios y renales, que mantienen constantes las concentraciones de sus componentes.

Cuestión 6: d. En situaciones patológicas, como la diabetes mellitus, el excesivo catabolismo de las grasas hace que se incremente la cantidad de ácidos orgánicos tales como el láctico o el acetoacético y, con ello la acidosis.

Cuestión 7: e. Las propiedades coligativas dependen del número de partículas. El NaCl origina una disolución iónica de dos partículas, mientras que la glucosa proporciona una disolución molecular de una partícula.

Cuestión 8: a. Todas esas propiedades dependen del número de partículas; son, por tanto, coligativas.

Cuestión 9: c. Son sistemas heterogéneos en los que el tamaño de partícula está comprendido entre el de las disoluciones verdaderas y el de las suspensiones. La de sacarosa es una verdadera disolución.

Cuestión 10: b. Las tres primeras sí, al tratarse de macromoléculas. La fructosa origina una disolución verdadera.

Cuestión 11: c. La razón de esa menor concentración que la plasmática se debe al desequilibrio iónico ocasionado por el efecto Gibbs-Donnan.

Cuestión 12: a. Tres factores contribuyen a esa presión: a) la presión osmótica debida al coloide; b) el efecto Gibbs-Donnan debido al coloide; c) la atracción del agua por los coloides.

Cuestión 13: d. El cloruro es un ion típicamente extracelular. El sodio es también extracelular, mientras que el potasio y el fosfato son intracelulares.

Cuestión 14: a. La hormona aldosterona regula la reabsorción de sodio en los túbulos renales. Su excesiva síntesis (síndrome de Conn) origina una excesiva reabsorción de sodio y una excesiva excreción de potasio.

Cuestión 15: c. En la enfermedad de Addison se produce una situación de hiperaldosteronismo, lo que provoca una escasa reabsorción de sodio en el riñón y una escasa excreción de potasio por la orina.

Capítulo 4

Cuestión 1: c. El metabolismo intermediario comprende las transformaciones metabólicas del organismo; el metabolismo basal se refiere al gasto energético en situación de reposo. Los procesos anabólicos, biosintéticos, requieren energía y los catabólicos la producen.

Cuestión 2: c. Los procesos catabólicos, convergentes, liberan energía y se regulan, usualmente, de modo paralelo, pero diferente a la regulación de los anabólicos.

Cuestión 3: e. El término anfibólico hace referencia a interconversiones entre moléculas situadas, bien al comienzo de las vías anabólicas o al final de las catabólicas, por lo que su finalidad puede ser variable, según las circunstancias.

Cuestión 4: e. La espontaneidad va ligada a un cambio de energía libre negativo, a que el proceso sea exergónico.

Cuestión 5: d. Aunque termodinámicamente la segunda reacción pueda compensar energéticamente las necesidades de la primera, sin embargo, no existe una enzima que catalice el acoplamiento biológico de ambos procesos.

Cuestión 6: e. Las transformaciones espontáneas son exergónicas y puede producirse acoplamiento entre procesos endergónicos y exergónicos; en la hidrólisis del ATP se producen protones, por lo que un medio más ácido dificulta esa hidrólisis.

Cuestión 7: a. El potencial menos negativo corresponde al sistema oxalacetato/malato que, por tanto, será el que actuará como oxidante.

Cuestión 8: a. Las concentraciones de reaccionantes son iguales y sólo hay que considerar los potenciales estándares. El más positivo es el del dehidroascorbato/ascorbato, por lo que actuará como oxidante. Se reduce dehidroascorbato y se oxida el glutatión.

Cuestión 9: c. Aplicando la expresión $\Delta G'_{\circ} = -n \cdot F \cdot \Delta E'_{\circ}$, en que $n = 2$, $F = 23\,000$ e $\Delta E'_{\circ} = 0.148$ v, el resultado es que $\Delta G'_{\circ}$ vale unas 6808 cal/mol.

Cuestión 10: b. Para vencer la diferencia de concentración: $\Delta G'_{\circ} = RT \cdot \ln(c_1/c_2) = 280$ cal/mol, y hay que transportar $2.2 \times 0.176 = 0.3872$ moles, que representan 108.5 cal, que son proporcionadas por la hidrólisis de $108.5 : 7.463 = 14.5$ mmoles de ATP.

Cuestión 11: d. El sumando variable será $+R \cdot T \cdot \ln[H^+]$ = $2 \cdot 310 \cdot 2.3 \cdot \log[H^+] = -1.426 \cdot \text{pH}$. Para pH 7.0 vale -9982 cal/mol, por lo que el resto de sumandos suponen +1982 cal/mol. A pH 1, $\Delta G_{\circ} = +1982 - 1426 = +556$ cal/mol. A pH 8.0 será $\Delta G_{\circ} = +1982 - 11\,408 = -9426$ cal/mol.

Cuestión 12: e. En la glicólisis, la hidrólisis del fosfoenolpiruvato se usa en una reacción acoplada a que ADP se transforme en ATP; y la hidrólisis del ATP posibilita la fosforilación de glucosa hasta glucosa-6-fosfato.

Cuestión 13: e. La carga energética vale $(3.5 + 0.5 \cdot 1)/5 = 0.8$ por lo que no existe un gran predominio de procesos catabólicos.

Capítulo 5

Cuestión 1: b. La lactosa contiene un carbono anomérico libre en la glucosa y, por tanto, existen dos anómeros posibles y la capacidad de mutarrotar.

Cuestión 2: e. El yodo para colorearse de color azul necesita introducirse en la estructura helicoidal de un polisacárido lineal y neutro, que contiene sólo el almidón (amilasa). La heparina está sulfatada y es ácida, lo que impide que una al yodo.

Cuestión 3: a. La lactosa es el azúcar principal de la leche de los mamíferos, y su estructura es O- β -D-galactopiranósil (1 \rightarrow 4)-D-glucopiranosa, es decir, un disacárido con enlace β y un carbono anomérico libre en la glucosa.

Cuestión 4: b. El almidón y la sacarosa son dos carbohidratos sin carbono anomérico libre (en el almidón, uno por cadena, que no es suficiente para mostrar carácter reductor).

Cuestión 5: b. El ácido hialurónico, como otros glicosaminoglicanos, contiene alternancia de enlaces β (1 \rightarrow 4) y β (1 \rightarrow 3).

Cuestión 6: c. Ambas son aldopentosas y la desoxirribosa forma parte del ADN, no del ARN.

Cuestión 7: e. El C anomérico, que es el 1, sufre en disolución el fenómeno de la mutarrotación. Tanto el glucógeno como la amilosa contienen sólo alfa-D-glucosa.

Cuestión 8: d. D-fructosa y D-glucosa no son epímeros, sino isómeros de función, puesto que la primera es una cetohexosa y la segunda, una aldohexosa.

Cuestión 9: b. Galactosa y manosa se diferencian en los carbonos 2 y 4. D- y L-glucosa son imágenes especulares entre sí.

Cuestión 10: a. La rotación óptica se obtiene mediante la expresión: $\alpha = [\alpha]_D^L \cdot 1 \cdot (dm) \cdot c(g/mL)$.

Cuestión 11: c. Los ácidos no pueden ser derivados reducidos de los azúcares, pero el sorbitol sí. El ácido glutárico no es derivado de ningún azúcar, sino un ácido graso de 5 átomos de carbono.

Cuestión 12: b. La maltosa es la O-alfa-D-glucopiranósil (1 \rightarrow 4)-D-glucopiranosa, quedando el carbono anomérico de la segunda subunidad libre y, por tanto, con posibilidad de estereoisomería alfa/beta.

Cuestión 13: c. La lactosa está formada por galactosa y glucosa unidas por un enlace β (1 \rightarrow 4).

Cuestión 14: a. Los carbonos anoméricos no muestran su carácter reductor cuando forman parte del enlace glicosídico.

Cuestión 15: a. Los heteropolisacáridos tienen subunidades distintas. La celulosa es una cadena lineal. Los polisacáridos sólo tienen un carbono anomérico libre en el extremo de las largas cadenas. Efectivamente, el glucógeno presenta enlaces α (1 \rightarrow 4) o bien (1 \rightarrow 6).

Cuestión 16: d. El glucógeno es un polisacárido de reserva, y el tamaño de la amilopectina es generalmente mayor que el de la amilosa, puesto que presenta un mayor grado de ramificación.

Cuestión 17: a. La quitina es el constituyente del exoesqueleto de esos animales, y su estructura responde a un homopolisacárido lineal de N-acetil-2-D-glucosaminas unidas por enlaces β (1 \rightarrow 4).

Capítulo 6

Cuestión 1: c. El EPA, como el resto de ácidos grasos, no tiene los dobles enlaces conjugados (cada 2 posiciones) y, en las grasas animales, los más abundantes son los ácidos grasos saturados.

Cuestión 2: e. La testosterona es un andrógeno y, por tanto, no contiene cadena lateral sobre el núcleo esteroide. Su grupo cetónico está sobre el C3.

Cuestión 3: a. Efectivamente, el grupo hidroxilo en C15 es común y los efectos apuntados son los principales de cada una de las moléculas mencionadas.

Cuestión 4: a. Cada uno de esos tipos de lípidos es ejemplo de una función diferente.

Cuestión 5: e. La ceramida está formada por esfingosina y un ácido graso.

Cuestión 6: a. La esfingosina, o 4-trans-esfingenina, contiene todos esos elementos estructurales.

Cuestión 7: c. La glicerina puede esterificarse en cualquier posición y con cualquier ácido graso, pero, no obstante, es frecuente que la posición central, la 2, se esterifique con ácidos grasos insaturados.

Cuestión 8: d. El TXA₂ tiene una vida media muy corta, se forma sólo en las plaquetas, y favorece la agregación plaquetaria.

Cuestión 9: d. Las lecitinas son derivados del ácido fosfatídico, esterificado con colina.

Cuestión 10: d. El ácido esteárico es el saturado de 18 átomos de carbono.

Cuestión 11: a. El colato tiene 3 hidroxilos, mientras que el litocolato sólo tiene 1. Por tanto, el carácter anfipático y emulsionante del colato será mayor, mientras el litocolato es hidrofóbico y mucho más insoluble.

Cuestión 12: d. El fitol es un diterpeno (20 átomos de carbono) y el geraniol un monoterpeno (10 átomos de carbono).

Capítulo 7

Cuestión 1: a. Cada aminoácido se abrevia con una sola letra mayúscula que se corresponde con su inicial, si no existen repeticiones. En tal caso, la letra es distinta. En los ejemplos mencionados, sólo la glicina mantiene la inicial.

Cuestión 2: b. Puesto que existen dos grupos ácidos, $pI = (pK_1 + pK_2)/2 = 2.5$.

Cuestión 3: b. El pI es mayor en el caso de la arginina porque este aminoácido tiene un grupo básico (guanidinio) en la cadena lateral, pero no porque la cadena lateral sea de mayor tamaño.

Cuestión 4: c. La estructura primaria es la secuencia en la cual están unidos los aminoácidos y, por supuesto, la presentan todas las proteínas y es específica de cada una de ellas.

Cuestión 5: c. Los aminoácidos consecutivos en la alfa-hélice están girados 100°, por lo que una vuelta completa supone los 3.6 residuos.

Cuestión 6: e. Todos los aminoácidos proteicos son generalmente L, excepto la glicina, que no tiene actividad óptica. La treonina y la isoleucina presentan un carbono quiral extra.

Cuestión 7: e. La caseína es una proteína de reserva láctea que une calcio, pero no presenta actividad enzimática.

Cuestión 8: d. El proceso de formación del enlace necesita energía y en el equilibrio está desplazado hacia la hidrólisis. La biosíntesis de proteínas necesita energía.

Cuestión 9: a. Las interacciones que intervienen son muy diversas, complejas y de intensidad variable (Van der Waals, hidrofóbicas, electrostáticas, puentes de hidrógeno, puentes disulfuro, etc.).

Cuestión 10: a. A pH fisiológico, el ácido aspártico tiene carga negativa en su cadena lateral, mientras la lisina la tiene positiva.

Cuestión 11: b. $pH = pK_1 + \log[\text{Ala}^+/\text{Ala}^-]$; de acuerdo con esta ecuación, a pH = 3.35 estamos una unidad por encima del pK_1 , de modo que la relación entre la forma doble ion y la catiónica vale 10.

Cuestión 12: b. Alfacetoglutárico, oxalacético y pirúvico son los cetoácidos de glutamato, aspartato y alanina respectivamente. No así el acetilacetato, un cuerpo cetónico de relación indirecta con los aminoácidos.

Cuestión 13: d. La desnaturalización disminuye generalmente la solubilidad de las proteínas porque pierden el plegamiento nativo y los residuos hidrofóbicos afloran al exterior, lo que favorece la agregación entre las moléculas.

Cuestión 14: d. A pH 6.9, o sea 2 unidades menos que el pK del grupo ionizable de referencia, habrá 100 veces más de la especie aún protonada, la Lys^{+2} . Por tanto, esa relación será 0.01.

Cuestión 15: a. La histidina tiene un grupo imidazol; la prolina, uno pirrol; ambos pentagonales, pero diferentes.

Cuestión 16: c. El colágeno apenas contiene W y C, y los residuos de P e HO-P son frecuentes, pero no se repiten de forma tan monótona como la G.

Capítulo 8

Cuestión 1: c. El par C-G tiene tres enlaces por puentes de hidrógeno mientras que el par A-T sólo tiene dos.

Cuestión 2: c. Las bases se unen por enlaces por puentes de hidrógeno y el ADN Z tiene estructura helicoidal levógira.

Cuestión 3: b. La cromatina tiene ADN e histonas, que son proteínas eucarióticas con carga positiva.

Cuestión 4: b. H1 no forma parte del octámero.

Cuestión 5: e. Independiente de la longitud, 30% C, parte interior y enlaces por puentes de hidrógeno.

Cuestión 6: b. La forma predominante de G es la forma ceto o lactama.

Cuestión 7: a. 2'-desoxirribosa, por el N del anillo y carga negativa.

Cuestión 8: c. La ribosa no impide la formación de doble hélice.

Cuestión 9: c. T existe en algunos ARN, pero no es típica; guanosina por el hidroxilo del C1 de la pentosa.

Cuestión 10: e. Carga + en amino terminal; H2A, H2B, H3 y H4; acetilación de lisinas; con aproximadamente 200 p.b.

Capítulo 9

Cuestión 1: a. Todas las magnitudes citadas corresponden a propiedades termodinámicas del proceso, relacionadas con los estados inicial y final, pero independientes de la presencia o no de un catalizador.

Cuestión 2: a. La elevada afinidad de la enzima por sus sustratos posibilita la formación de complejos enzima-sustrato, incluso a concentraciones muy bajas de éstos, y la estructura del centro activo hace que dicha unión se produzca en una orientación apropiada.

Cuestión 3: d. La catálisis covalente supone la formación de un aducto intermedio covalente entre algún grupo reactivo de la enzima y el sustrato. En el ciclo catalítico de la acetilcolinesterasa, la formación de un intermedio acil-enzima es necesario para la hidrólisis de la acetilcolina.

Cuestión 4: a. Aplicando la ecuación de Michaelis-Menten, para $V = V_{\text{máx}}/n$ debe cumplirse que $[S] = K_M/(n - 1)$.

Cuestión 5: c. La linearización de la ecuación de Michaelis-Menten es una operación matemáticamente sencilla, que sólo requiere pequeñas reordenaciones de la ecuación original. En el método de Lineweaver-Burk, en ordenadas se representa la inversa de la velocidad y, en absisas, la inversa de la concentración de sustrato. En el de Eadie-Hofstee, se representa el cociente de la velocidad de la reacción y la concentración de sustrato frente a la concentración de sustrato.

Cuestión 6: b. Al aumentar la temperatura se incrementa la velocidad de la reacción, hasta que llega un punto en que la enzima empieza a desnaturizarse. A partir de esa temperatura, la velocidad de la reacción disminuye, porque la velocidad de desnaturización aumenta.

Cuestión 7: c. Una de las mayores diferencias entre el modelo concertado y el modelo de Koshland es que el primero sólo permite explicar efectos homotrópicos positivos, mientras que esta limitación no existe en el modelo secuencial.

Cuestión 8: c. El carácter alostérico de la primera enzima de la vía hace posible que sea regulada por efectores tales como el producto final, que pueden unirse a sitios alostéricos diferentes del centro activo. Puesto que los sitios de unión del sustrato y los efectores no son los mismos, no es necesario que estas moléculas presenten similitudes estructurales.

Cuestión 9: b. Los grupos prostéticos, como las coenzimas, pueden tener una estructura química compleja y no se sintetizan «de novo» sino a partir de las vitaminas. El ácido lipoico participa en reacciones de transferencia de electrones, mientras que la avidina se une con mucha actividad a la biotina e imposibilita su acción.

Cuestión 10: c. Las embarazadas necesitan un aporte suplementario de vitaminas, y es, sobre todo, recomendable el complemento de ácido fólico, que parece prevenir la aparición de espina bifida en el feto. La pelagra es una enfermedad carencial, y no una hipervitaminosis y está provocada por la carencia de niacina.

Capítulo 10

Cuestión 1: c. Son los genes los responsables de la composición de la membrana y de que ésta funcione adecuadamente, habida cuenta de la estrecha relación existente entre estructura y función.

Cuestión 2: b. La única diferencia entre una translocación de grupos y un transporte activo es que la especie química que se deposita en el compartimento de llegada es diferente de la que partió del de salida.

Cuestión 3: b. El grado de especificidad de un tipo de ionóforo es irrelevante respecto a su capacidad de moverse en las membranas con más o menos colesterol.

Cuestión 4: b. Los transportes mediados, activo o pasivo, presentan idéntica cinética hiperbólica; sólo se diferencia en cuanto a su dependencia, o no, de la energía metabólica.

Cuestión 5: e. Como sistema de translocación de grupos que es, el ciclo del γ -glutamilo sí depende de la energía metabólica para concentrar cualquier aminoácido que no sea Pro o HPro.

Cuestión 6: e. La secreción de ácido al estómago durante la digestión supone pasar los protones desde un pH de partida de 7.4 a uno final cercano a 1.

Cuestión 7: d. La cinética de los sistemas mediados de transporte es siempre hiperbólica y los activos tiene un irrenunciable carácter vectorial.

Cuestión 8: d. Es una característica genética el tipo de lípido que debe figurar en cada membrana, no el ácido graso concreto que deba participar en dicho lípido. Desde luego, los componentes de la membrana tienen limitados sus movimientos a aquellos que sean termodinámicamente compatibles con sus características.

Capítulo 11

Cuestión 1: c. El valor nutritivo de las proteínas se relaciona con su composición en aminoácidos esenciales. Los requerimientos energéticos de un ser humano, entre otros factores, dependen de la edad. La ingesta normal proteica es de 1g por día y kg de peso.

Cuestión 2: e. El alto valor energético de los lípidos (9 kcal/g) está en consonancia con que su participación ponderal en una dieta equilibrada sea inferior al 20% de la ingesta total.

Cuestión 3: d. Entre otros factores, la cetosis producida por una dieta de este tipo haría que se produjese graves alteraciones metabólicas, que llegarían a dificultar la propia obtención de la energía a través de los procesos oxidativos.

Cuestión 4: b. En los mamíferos, es imposible que los carbonos de los ácidos grasos puedan llegar a convertirse, de forma neta, en carbonos de hidratos de carbono.

Cuestión 5: b. Por litro de oxígeno, los hidratos de carbono, tomados como combustibles, producen más rendimiento que los lípidos.

Cuestión 6: a. Una bilis con exceso de colesterol acabará produciendo cristales de este compuesto (o sea, será litógena), lo que dificultaría la llegada de cantidad suficiente de bilis al lumen intestinal. En esas condiciones, no se alcanzará la concentración micelar crítica, la absorción de los productos de la digestión de los lípidos será escasa, y muchos de ellos llegarán hasta las heces que, en consecuencia, serán esteatorreicas.

Cuestión 7: c. Una afección renal, al interferir el metabolismo de la vitamina D, vital para la absorción del Ca, ocasionará una menor absorción de Ca y, eventualmente, raquitismo en los niños. El Fe nunca aparece en la orina de las personas sanas.

Cuestión 8: e. La saliva dispone de α -amilasa como única enzima digestiva. Por ello, sólo hay una escasa digestión de almidón y glucógeno en la boca. Ninguna otra biomolécula es digerida antes de que el bolo alimenticio llegue al estómago.

Cuestión 9: c. La bilis ayuda a la digestión y, sobre todo, a la absorción de los lípidos, pero no interviene en la de ningún otro tipo de biomolécula de la dieta. Muy pocos ácidos biliares se pierden en las heces cada día porque hay un eficiente sistema de recuperación de estos compuestos en el íleon.

Cuestión 10: c. Si el enterocito no puede fabricar proteínas, será difícil ensamblar los quilomicrones, vehículo destinado a transportar hasta los tejidos interiores el grueso de los lípidos de la dieta.

Cuestión 11: d. Véase la segunda parte del comentario a la pregunta 9.

Cuestión 12: e. Las características de la membrana luminal de las células glomerulares renales con muy semejantes a las de la membrana luminal del enterocito, por ser ambas células frontera entre el interior y el exterior de un ser vivo. Por tanto, unas y otras tienen los mismos tipos de transportadores, fundamentalmente activos, para las principales biomoléculas.

Cuestión 13: c. Cuanto mayor sea el valor del parámetro capacidad latente de transporte de hierro, tanto más centros activos libres tendrán las moléculas de la proteína plasmática transferrina.

Capítulo 12

Cuestión 1: e. Pueden realizar todas las funciones enunciadas, sin exclusión de ninguna de ellas.

Cuestión 2: c. Las hormonas, de variada naturaleza química, ejercitan acciones endocrinas, pero, también, específicamente, paracrinias y autocrinas.

Cuestión 3: b. La actuación de las hormonas no suele tener características enzimáticas, ya que no transforman químicamente el blanco metabólico de su acción.

Cuestión 4: c. Las hormonas regulan, pero no crean, las rutas metabólicas sobre las que actúan.

Cuestión 5: d. El calificativo de cíclico hace mención a que el fosfato forma un ciclo a través de dos enlaces ésteres con los hidroxilos de la ribosa, situados en 3' y 5'.

Cuestión 6: c. La activación de la proteína quinasa dependiente de AMPc no supone alteración en la molécula del AMPc, que actúa como efecto de las subunidades reguladoras de las quinasas.

Cuestión 7: d. La adrenalina, por ejemplo, estimula a la adenilato ciclase a través de receptores β -adrenérgicos y la inhibe, a través de los α_2 -adrenérgicos.

Cuestión 8: c. La hormona, a través de las proteínas G de la membrana, consigue la activación de la adenilato ciclase unida a la membrana.

Cuestión 9: c. El IP₃ es reconocido por receptores específicos del retículo endoplásmico, que actúan sobre las proteínas G, que median el proceso de liberación de calcio desde el retículo hasta el citoplasma.

Cuestión 10: a. Han de corresponder a las hormonas que pueden introducirse en las células atravesando las membranas, es decir, a aquellas que poseen un carácter más hidrofóbico.

Cuestión 11: b. Los mecanismos básicos moleculares de los factores de crecimiento y de la acción hormonal son muy semejantes, entre ellos, su reconocimiento específico mediante receptores.

Capítulo 13

Cuestión 1: e. Varias etapas, como las descarboxilantes, son bastante irreversibles y en cada vuelta del ciclo se obtienen 3 NADH y 1 FADH₂. La energía para la síntesis del citrato se obtiene de la hidrólisis del acetilCoA. El ácido α -cetoglutarato sería C₅H₆O₅.

Cuestión 2: c. Las enzimas son mitocondriales, pero pueden participar individualmente en transformaciones puntuales cuyo destino final puede ser anabólico o catabólico.

Cuestión 3: b. El pirofosfato de tiamina es el grupo prostético de la acción descarboxilasa; el ácido lipoico es grupo prostético de la transacilasa, cuyo acceptor de acilo es el HSCoA.

Cuestión 4: e. La ATPasa se sitúa en la membrana interna mitocondrial, pero en lo que participa es en el proceso de la fosforilación oxidativa.

Cuestión 5: e. El cianuro, como otros potentes venenos, bloquea la citocromo oxidasa en el complejo IV, impidiendo la actuación del oxígeno.

Cuestión 6: b. Teniendo en cuenta la localización de los lugares de fosforilación oxidativa, P/O será 2. 5 para el NADH, y 1.5 para el FADH₂.

Cuestión 7: b. Los desacopladores (tiroxina y 2,4-dinitrofenol) disipan la fuerza protonmotriz, como si permeabilizasen la membrana interna mitocondrial hacia los protones, con lo que la energía se libera en forma de calor (una de las funciones del tejido pardo).

Cuestión 8: e. Precisamente, para la adecuada función de la enzima se requiere que hacia el lado interno de la membrana interna sea capaz de captar o liberar ADP, Pi y ATP, mientras que por el lado externo se produce la entrada/salida de protones.

Cuestión 9: c. Las dos malatos deshidrogenasas, extramitocondrial e intramitocondrial, hacen que disminuya el oxalacetato citosólico y aumente el mitocondrial. Las glutamato/oxalacetato aminotransferasas, junto con los antiportes Malato/α-cetoglutarato y Glu/Asp, completan el ciclo.

Cuestión 10: c. Cooperan dos glicerofosfato deshidrogenasas. La citoplasmática, dependiente de NADH, en sentido reductor, y la ligada a la membrana interna, dependiente de FAD, en sentido deshidrogenante, con lo que el FAD pasa a FADH₂, que equivale a 2 ATP.

Cuestión 11: c. El sistema de transporte citrato/malato es de tipo antiporte y sirve para que el acetilCoA intramitocondrial, condensado con oxalacetato, formando citrato, pase al citoplasma, donde el citrato se desdobra otra vez en acetilCoA y oxalacetato.

Cuestión 12: e. La superóxido dismutasa, con el consumo de protones, convierte al sustrato anión superóxido en oxígeno molecular y peróxido de hidrógeno. Los sistemas inmunológicos de defensa celular producen radicales libres para luchar contra las partículas o células extrañas.

Capítulo 14

Cuestión 1: a. Los monosacáridos procedentes de la digestión o del metabolismo se metabolizan en el hígado en su mayor parte y en la célula hepática, se realizan prácticamente todas las transformaciones posibles.

Cuestión 2: c. La transformación desde glucosa a piruvato o lactato se realiza mediante enzimas citoplasmáticas, tras lo cual, si el piruvato ha de catabolizarse aeróbicamente, se introduce en las mitocondrias.

Cuestión 3: e. La fructoquinasa transforma la fructosa en fructosa-1-fosfato, que una aldolasa característica hepática desdobra hasta dihidroxiacetona fosfato y gliceraldehído.

Cuestión 4: b. Las reacciones que tienen lugar son: G → G6P → G1P; G1P + UTP → UDPG + PPi, UDPG → UDPGal; y, finalmente, UDPGal + PPi → UTP + Gal1P. Con todas las enzimas presentes, el único factor que falta añadir es el UTP.

Cuestión 5: b. La irreversibilidad del proceso imposibilita metabólicamente la transformación de acetilCoA hasta piruvato y, con ello, la de los ácidos grasos naturales a hidratos de carbono.

Cuestión 6: a. Es estrictamente glicolítico el PEP y estrictamente de la ruta de las pentosas fosforiladas son ribulosa-5-fosfato, 6-fosfogluconato y xilulosa-5-fosfato.

Cuestión 7: c. El NADPH es producido en el citoplasma y es impermeable respecto a la membrana interna mitocondrial. Aparte de ello, su función energética principal es su uso como coenzima redox en los procesos anabólicos endergónicos.

Cuestión 8: b. Los ácidos grasos pares íntegramente se convierten en acetilCoA, no transformable en los seres humanos en ningún precursor de la glucosa.

Cuestión 9: e. El oxalacetato producido intramitocondriamente es impermeable respecto a la membrana interna mitocondrial, por lo que se ha de utilizar su paso a malato y el paso de éste acoplarlo al sistema que no modifique el equilibrio NAD⁺/NADH citoplasmático.

Cuestión 10: c. La concentración alta de citrato (al igual que la de ATP o que la baja de AMP) significa una gran disponibilidad energética para disminuir la velocidad glicolítica o aumentar la gluconeogénica.

Cuestión 11: c. El papel de la insulina no es el de inductor de esas enzimas sino que su actuación es la contraria.

Cuestión 12: b. El camino a seguir sería: G + ATP → G6P + ADP; G6P ⇌ G1P; G1P + UTP ⇌ PPi + UDPG; UDPG + glucógeno (n-1) ⇌ UDP + glucógeno (n), y las enzimas respectivas, glucoquinas, hexosa-fosfato isomerasa, UDPG pirofosforilasa y glucógeno sintasa.

Cuestión 13: a. En el músculo, cuyo glucógeno posee funciones energéticas, los principales efectores son energéticos: AMP, ATP así como el inicio y final de la reacción: G6P y glucógeno. En el hígado, cuyo glucógeno regula la glucemia, un gran modulador es la propia glucosa.

Cuestión 14: e. La acción del glucagón se efectúa a través de la adenilato ciclase, el AMPc, la PKA, otras quinasas, el inhibidor de fosfoproteína fosfatasa, etcétera.

Capítulo 15

Cuestión 1: d. En la degradación oxidativa de los ácidos grasos se produce agua; el catabolismo es general; la movilización de las grasas ocurre cuando hay déficit de energía y la albúmina se encarga de transportar los ácidos grasos.

Cuestión 2: c. El AMPc favorece la lipogénesis, activando la triacilglicerol lipasa, y dificulta la lipólisis.

Cuestión 3: e. A pH neutro, fisiológico, ADP³⁻ + P_i²⁻ + H⁺ → ATP⁴⁻ + H₂O, y por cada palmitoilCoA se obtienen en total 131 ATP que significan 131H₂O, que se suman a las obtenidas en la degradación catabólica del palmitoilCoA.

Cuestión 4: b. Ambas partes son ciertas pero no hay relación causa-efecto entre ellas.

Cuestión 5: e. La reductasa mencionada reduce, con NADPH, el 3-cetoacil derivado previo obtenido mediante la acción de la 3-cetoacil-PTA sintasa.

Cuestión 6: c. La sintetasa de ácidos grasos se integra por subunidades pertenecientes a siete actividades enzimáticas distintas, como complejo citoplasmático en el que hay dos clases de grupos tióles funcionales. Las actividades deshidrogenantes operan con NADP⁺.

Cuestión 7: c. La biosíntesis, más intensa en el hígado y el tejido adiposo, es general en los tejidos de los mamíferos, y la transferencia de los restos de ácidos grasos se hace con éstos en forma de acilCoA.

Cuestión 8: e. El colesterol forma parte de las membranas y su paso a través de ellas es muy fácil.

Cuestión 9: a. El colesterol es precursor metabólico de un gran número de sustancias esteroideas.

Cuestión 10: d. El eficaz sistema de reciclaje enterohepático hace que más del 90% de los ácidos biliares del lumen se absorban y vuelvan al hígado, por lo que este órgano, único donde se sintetizan, sólo tiene que recuperar esa pequeña pérdida diaria.

Cuestión 11: b. Lo que se afirma en ambas premisas es cierto, pero no existe entre ellas relación causa/efecto.

Cuestión 12: a. El fallo de los receptores de LDL hace que el colesterol no se metabolice adecuadamente, incrementándose la hipercolesterolemia y los riesgos cardiovasculares.

Cuestión 13: e. Todos estos lípidos, abundantes en el sistema nervioso, se catabolizan lisosómicamente; en la enfermedad de Tay-Sachs falla el paso hidrolítico que cataboliza la conversión del GM₂ a GM₃, por lo que se acumula GM₂.

Capítulo 16

Cuestión 1: c Los casi 3 moles de aminoácidos convertidos en proteínas necesitan la hidrólisis de unos 18 moles de ATP, cuya obtención metabólica supone aproximadamente la combustión de 1/2 mol de glucosa, es decir unas 340 kcal.

Cuestión 2: c. Estas endopeptidasas lisosomales (catepsinas D, B, L, H, etc.) poseen especificidades individuales características.

Cuestión 3: b. La ubiquitina, localizada muy universalmente, es una pequeña proteína, que reconoce a las proteínas que se han de degradar, se policonjuga con ellas en el citoplasma y el complejo resultante es objeto de la acción de maquinarias proteolíticas específicas.

Cuestión 4: a. Todos los factores citados estabilizan, de uno u otro modo, la estructura proteínica, con lo que queda disminuida su vida media.

Cuestión 5: c. La absorción intestinal se realiza como tales aminoácidos, pero la participación de diferentes aminotransferasas es esencial en el metabolismo del grupo amino de los aminoácidos.

Cuestión 6: b. En el inicio del ciclo de la urea la formación de fosfato de carbamoilo se realiza mitocondrialmente mediante la carbamoil-fosfato sintetasa I, con el nitrógeno procedente directamente del amoníaco.

Cuestión 7: c. Esta irreversibilidad es la que establece principalmente el sentido del ciclo, mientras que la reversibilidad de otros pasos permitiría, por ejemplo, que la arginina, se transformase en succinilarginina en el citoplasma.

Cuestión 8: a. En todos los casos intervienen aminoácido descarboxilasas que conducen a la formación de las correspondientes aminas, entre las que se encuentran poliaminas, como la putrescina y la cadaverina, neurotransmisores como el GABA, o vasodilatadores como la histamina.

Cuestión 9: a. En los melanocitos de la piel existe una oxidasa específica, la tirosinasa, que conduce desde la tirosina hasta la dopa. Esta enzima es diferente de la hidroxilasa que cataliza esa misma conversión en la ruta de las catecolaminas.

Cuestión 10: c. El hígado cataboliza la mayor parte de los aminoácidos, entre ellos casi todos los esenciales, pero exceptuando a los ramificados.

Cuestión 11: a. Todos ellos están, acompañados, además, de la isoleucina y la lisina.

Cuestión 12: e. Hasta AMP o GMP se necesitan dos pasos. La actuación de IMP deshidrogenasa, que depende de NAD⁺, transforma IMP en XMP.

Cuestión 13: d. Lo que bloquea es la transformación de hipoxantina en xantina y la de ésta en ácido úrico.

Cuestión 14: c. Mediante una enzima de recuperación, la orotato fosforribosil transferasa, se forma el nucleótido ácido orotídilico, OMP, a partir de la base pirimidínica ácido orótico, por lo que el OMP es el nucleótido precursor del resto.

Cuestión 15: e. El ATP estimula el proceso reductor a través de la activación de la enzima reductasa.

Capítulo 17

Cuestión 1: c. La principal reserva energética del organismo son los triacilglicéridos del tejido adiposo. El glucógeno se almacena esencialmente en el hígado y en el músculo, pero el glucógeno muscular no sirve para controlar la glucemia, ya que el músculo no expresa la enzima glucosa-6-fosfatasa.

Cuestión 2: c. Los cuerpos cetónicos formados en el hígado a partir de acetilCoA son el combustible habitual de algunos tejidos como el miocardio. Incluso el cerebro puede consumirlos cubriendo parcialmente sus necesidades de energía, tras un período de adaptación a la escasez de glucosa.

Cuestión 3: d. La movilización de grasas proporciona glicerol para la neoglucogénesis, y combustibles lipídicos. El acetilCoA no puede ser transformado en glucosa, pero inhibe la descarboxilación de piruvato, reservándolo para la neoglucogénesis.

Cuestión 4: d. Aunque el citrato se genera en la mitocondria, es capaz de atravesar la membrana mitocondrial y salir al citosol. Recuérdese el papel de la lanzadera de citrato en la exportación de acetilCoA de la mitocondria al citosol para la biosíntesis de los ácidos grasos.

Cuestión 5: e. La reacción catalizada por la *piruvato deshidrogenasa* es irreversible y no existen reacciones alternativas para transformar acetilCoA en piruvato. Por ello, los cuerpos cetónicos no pueden pasar a glucosa vía acetilCoA.

Cuestión 6: a. En la diabetes mellitus, la falta de insulina ocasiona una estimulación continua de la glucogenólisis y la neoglucogénesis hepáticas. En consecuencia, el hígado libera glucosa en lugar de almacenarla como glucógeno, independientemente de la glucemia.

Cuestión 7: d. Una glucemia alta provoca el paso de glucosa a la orina, lo que se acompaña de salida de agua por efecto osmótico y de pérdida de iones. La movilización masiva de las grasas del tejido adiposo produce una cetoacidosis marcada que puede dar lugar a coma.

Capítulo 18

Cuestión 1: a. En la transcripción inversa se obtiene ADN a partir de ARN.

Cuestión 2: d. Los de histonas, por ejemplo, son continuos y de mayor tamaño que los procariotas.

Cuestión 3: a. Las dos cadenas de los genomas son codificantes, pero no las dos de un gen.

Cuestión 4: d. El porcentaje de ADN no codificante en las bacterias es muy bajo.

Cuestión 5: b. La eucromatina está menos empaquetada.

Cuestión 6: d. Los genes de la familia α en el cromosoma 16 y de la β en el 11. No se encuentran en el centrómero.

Cuestión 7: c. Los genes de las histonas y ARNr están repetidos. Los microsatélites tienen de 1 a 5 p.b. Menos de 1 kb.

Cuestión 8: e. Son secuencias repetidas dispersas.

Cuestión 9: e. Son ciertas a y c.

Cuestión 10: b. Son continuos como los de las bacterias.

Capítulo 19

Cuestión 1: e. Son correctas b y c.

Cuestión 2: c. La *primasa* crea el cebador y las *topoisomerasas* afectan al enrollamiento del ADN.

Cuestión 3: a. Monofocal, dirección 5'→3' y región *ter*.

Cuestión 4: a. Durante la fase S, se requiere la síntesis de ADN e histonas para la replicación de los cromosomas eucarióticos.

Cuestión 5: b. Una es continua y la otra discontinua.

Cuestión 6: b. La *telomerasa* participa en la replicación de los extremos.

Cuestión 7: a. Múltiples orígenes, antes eucromatina que heterocromatina, todo los centrómeros se replican.

Cuestión 8: c. Un cromosoma con una hebra antigua y una nueva.

Cuestión 9: d. Por reversión simple sólo algunas, ADN glicosilasas en BER y endonucleasas AP, los sitios abásicos.

Cuestión 10: d. La radiación UV genera dímeros de timina; la reparación de los apareamientos incorrectos funciona en ambos sistemas.

Capítulo 20

Cuestión 1: b. Idéntica a la hebra con sentido.

Cuestión 2: b. La subunidad σ participa sólo en la iniciación.

Cuestión 3: b. Por la subunidad σ^{70} .

Cuestión 4: c. La II sintetiza ARNh y se inhibe por α -amanitina.

Cuestión 5: e. Son factores *trans* que interaccionan con el ADN y la ARN polimerasa en el núcleo celular.

Cuestión 6: c. A los HRE se unen receptores hormonales.

Cuestión 7: d. Existe similitud entre los sistemas genéticos de las bacterias y las mitocondrias.

Cuestión 8: a. Los intrones se eliminan del ARNh.

Cuestión 9: d. En el núcleo celular.

Cuestión 10: a. El *splicing*, la poliadenilación del extremo 3' y el editado ocurren en el ARNm eucariótico.

Capítulo 21

Cuestión 1: e. La pauta de lectura ocupa la parte central del ARNm.

Cuestión 2: d. Dirección 5'→3'. Polirribosomas.

Cuestión 3: c. El código genético es universal y degenerado.

Cuestión 4: b. Por el carboxilo.

Cuestión 5: b. Es metionina.

Cuestión 6: c. No impiden el avance; eEF-2 participa en la translocación.

Cuestión 7: a. Afecta a eEF-2. Puromicina.

Cuestión 8: c. Contienen cola de poli(A).

Cuestión 9: b. Los ARNm eucariotas son policistrónicos y deben madurar en el núcleo antes de ser traducidos en el citosol.

Cuestión 10: d. Eficacia variable.

Capítulo 22

Cuestión 1: e. Son correctas a y b.

Cuestión 2: d. La escasez de aminoácidos disminuye la síntesis de ARNr y proteínas ribosomales.

Cuestión 3: c. La expresión de genes no constitutivos es específica de tejido.

Cuestión 4: e. La metilación del ADN y la descretilación de las histonas disminuyen la transcripción de un gen concreto.

Cuestión 5: b. Se unen mejor cuanto menos condensada esté.

Cuestión 6: a. Hormonas, ARN interferentes y proteínas que unen al ARNm afectan a la cantidad de proteína sintetizada.

Cuestión 7: e. Son correctas a y b.

Cuestión 8: c. El represor *lac* se une al operador.

Cuestión 9: a. El editado del mensajero ocurre en el intestino delgado.

Cuestión 10: c. Los micro ARN no se unen a la cola de poli(A).

Capítulo 23

Cuestión 1: e. Son correctas a y c.

Cuestión 2: c. Los YAC se utilizan para clonar fragmentos más grandes que los fagos.

Cuestión 3: e. Las genotecas de ADN genómico incluyen todas las recurrencias de ADN.

Cuestión 4: a. La técnica enzimática de Sanger utiliza ddNTPs, produce fragmentos que difieren en un nucleótido y no puede automatizar.

Cuestión 5: c. Inversamente proporcional.

Cuestión 6: c. Requiere ADN molde y enzimas.

Capítulo 24

Cuestión 1: c. Generalmente a las del extremo 3'.

Cuestión 2: a. Gran parte del ADN humano es no codificante y contiene secuencias repetidas.

Cuestión 3: a. Las islas CpG abundan en las zonas codificantes.

Cuestión 4: d. El ADN utilizado procedía de varias personas de grupos étnicos diferentes.

Cuestión 5: b. Son ortólogos.

Cuestión 6: b. La técnica de Southern analiza fragmentos de ADN.

Cuestión 7: e. Son correctas b y c.

Cuestión 8: c. En algunas plantas hay más ADN, pero menos genes que en las células humanas.

Cuestión 9: b. La activación del gen delatador indica interacción entre proteínas cebo-presa.

Cuestión 10: e. El genoma de ratón es mayor que el del mosquito y se parece al humano más que el de *C. elegans*.

Capítulo 25

Cuestión 1: e. Son correctas b y d.

Cuestión 2: c. C → T: transición; G → T: transversión.

Cuestión 3: c. Las poliploidías afectan a todos los cromosomas. las trisomías a un cromosoma concreto.

Cuestión 4: b. El locus frágil es consecuencia de la amplificación de tripletes.

Cuestión 5: d. La mayor parte de las proteínas mitocondriales están codificadas por genes nucleares.

Cuestión 6: b. El síndrome de Down es una enfermedad cromosómica (trisomía).

Cuestión 7: e. Son correctas b y c.

Cuestión 8: a. La desaminación de mC genera T, «alteración» difícil de reparar.

Cuestión 9: b. En la terapia antisentido se bloquean ARNm.

Cuestión 10: c. Las enfermedades ligadas al cromosoma X afectan más a los hombres.

Capítulo 26

Cuestión 1: d. Los ribosomas que están adheridos a la membrana del RE son los que sintetizan las proteínas de la vía secretora, y de este modo facilitan la traslocación a este órgánulo, como primer paso de su tráfico hacia la membrana plasmática o los lisosomas.

Cuestión 2: c. Las proteínas lisosomales poseen, como todas las de la vía secretora, un péptido señal que las dirige al RE. Además, contienen en su conformación una región señal característica que las distingue de las de secreción y las dirige a los lisosomas, evitando de este modo que sean secretadas.

Cuestión 3: a. Es un péptido señal de 18 aminoácidos que, además, cumple el consenso de poseer en las posiciones -1 y -3 del sitio de corte de la peptidasa señal dos aminoácidos pequeños: Gly y Ala respectivamente.

Cuestión 4: b. La translocación postraduccional no necesita PRS ni su receptor, sin embargo, como la proteína se sintetiza completamente en el citosol, y ha de pasar desplegada por el translocón, precisa de chaperonas citosólicas que la mantengan desplegadas, y de la chaperona BiP del lumen del RE que colabore en la translocación del polipéptido al RE.

Cuestión 5: d. El plegamiento de las proteínas de la vía secretora está asistido por enzimas como PDI y como las PPIasas. Los puentes disulfuro que se forman en el lado luminal del RE, quedan expuestos en las proteínas transmembrana hacia el lado extracelular, ya que en todo momento se preserva la topología de las proteínas.

Cuestión 6: b. La afirmación y la justificación son ciertas en sí mismas, pero la inserción en la membrana no es debida a la palmitoilación de las Cys terminales, sino a las siete hélices transmembrana que tienen estas proteínas.

Cuestión 7: e. Todas las afirmaciones son ciertas. Las lectinas intervienen en el RE durante el proceso de *N*-glicosilación, reconociendo a proteínas defectuosas en el plegamiento. Las retienen y no las dejan progresar hacia el Golgi; de este modo, evitan que la célula exprese proteínas mal plegadas (inactivas).

Cuestión 8: b. La *N*-glicosilación es una modificación común, en el RE, para las proteínas lisosomales y las de secreción. Por eso, ambas contienen el núcleo de tres manosas. El receptor de Man6P es una proteína transmembrana del Golgi, y cuando se recicla en vesículas, vuelve al Golgi desde los endosomas.

Cuestión 9: a. Las dos afirmaciones son ciertas. La señal de -KADEL- de las proteínas solubles del RE es reconocida por su receptor. La señal -KKXX- de las proteínas transmembrana, entre ellas el receptor de -KADEL- sirve de anclaje para la formación del coatómero de COP I.

Cuestión 10: e. Las endoproteasas se caracterizan por cortar proteínas en secuencias internas, detrás de un par de aminoácidos básicos. Activan a zimógenos inactivos cuando elimina un péptido terminal, pero también dan lugar a distintos péptidos a partir de una poliproteína precursora.

Cuestión 2: c. Las primeras divisiones del núcleo del huevo fecundado de *Drosophila* originan una estructura sincitial, en la que la actividad transcripcional de los distintos núcleos está controlada por factores de transcripción maternos. Estos núcleos solo se individualizan en células separadas a partir de la novena división.

Cuestión 3: d. Los factores de transcripción maternos forman gradientes de concentración que proporcionan un primer nivel de regulación diferencial de la expresión génica.

Cuestión 4: c. La información genética contenida en todas las células del organismo es idéntica. Sin embargo, la expresión de determinados genes es específica de cada tejido, lo que determina sus particularidades metabólicas y funcionales.

Cuestión 5: c. Los genes homeóticos codifican factores de transcripción que regulan la expresión de muchos otros genes, de forma coordinada, a lo largo de la embriogénesis. Por tanto, la mutación de un sólo gen homeótico puede afectar a la expresión de muchos genes y originar cambios morfológicos complejos.

Cuestión 6: b. El receptor de EGF manifiesta actividad tirosina quinasa tras la unión del ligando, autofosforilándose en un proceso que aumenta su actividad frente a otros sustratos intracelulares. Además, la fosforilación le permite interaccionar con otras proteínas, a través de dominios SH2.

Cuestión 7: c. La activación de nucleasas, que conduce a la degradación del ADN entre los nucleosomas, es una etapa necesaria de la apoptosis, al igual que la activación de proteasas específicas.

Cuestión 8: c. Las hormonas pueden controlar el estado de proliferación y diferenciación de las células diana desde etapas muy tempranas del desarrollo, incluso durante el desarrollo embrionario.

Cuestión 9: c. La senescencia es un proceso de pérdida de capacidad replicativa regulado genéticamente por dos proteínas distintas derivadas del locus INK4A-ARF. Una de estas proteínas es un inhibidor de quinasas dependientes de ciclina, y la otra actúa esencialmente modulando los niveles de la proteína p53, que es un factor de transcripción.

Cuestión 10: a. Senescencia y cáncer son situaciones opuestas, ya que, en el primer caso la proliferación celular está impedida, mientras que en el segundo ocurre de forma continua y autónoma. La senescencia es, en cierto sentido, un mecanismo de protección frente al cáncer, y su desaparición como consecuencia de mutaciones en los genes que la regulan promueve la inmortalidad celular.

Capítulo 27

Cuestión 1: b. Los receptores de factores de crecimiento poseen una actividad *tirosina quinasa* dependiente del ligando, que se regula mediante otras *quinasas* intracelulares, lo que permite la comunicación entre vías de señalización y la integración de señales. Esta actividad vuelve a los niveles basales tras la desaparición del ligando, por lo que las células normales sólo responden a los factores de crecimiento cuando éstos están presentes.

Capítulo 28

Cuestión 1: e. El ácido nucleico viral puede ser ADN o ARN, monocatenario o bicatenario.

Cuestión 2: d. Los virus +ARN no portan *replicasa* y los viriones de los retrovirus contienen ARN.

Cuestión 3: e. Son correctas a y b.

Cuestión 4: d. Sólo los retrovirus transformantes.

Cuestión 5: d. La envoltura es rica en lípidos y glicoproteínas.

Cuestión 6: a. El ARN de los virus +ARN puede ser traducido mientras que el de los retrovirus necesita integrarse en el ADN previamente a su traducción.

Cuestión 7: c. La síntesis de ácidos nucleicos virales es un proceso similar a la de los eucariotas, pero menos precisa.

Cuestión 8: a. El ARN de los virus -ARN no puede actuar de ARNm, sintetizándose éste con la ayuda de la *replicasa de ARN*.

Cuestión 9: e. Formados por cuatro bases y usan el código genético universal.

Cuestión 10: b. El uso de varios fármacos disminuye la expansión de un virus mutante resistente.

Capítulo 29

Cuestión 1: a. Los carcinomas son cánceres que proceden de las células epiteliales. La gran mayoría de los cánceres pertenecen a este grupo (alrededor del 90%). En este grupo se incluyen los que afectan a la piel, las glándulas, las mamas y los órganos internos.

Cuestión 2: b. Los ésteres de forbol son promotores tumorales. Afectan al estado fisiológico del tejido y carecen de carácter mutágeno.

Cuestión 3: d. Este hecho fue observado por Otto Warburg y junto al efecto Cabtree (supresión del consumo de oxígeno por la célula) indica el elevado metabolismo anaerobio de la célula cancerosa.

Cuestión 4: a. La «c» minúscula que precede al gen indica que se trata de un protooncogén.

Cuestión 5: e. El extremo distal del brazo largo del cromosoma 8 se transloca al cromosoma 2, 14 o 22. Ello determina que *myc* se sobreexprese.

Cuestión 6: c. El producto del gen, la proteína p53, actúa frenando la replicación del ADN, si éste se encuentra dañado. Si la reparación es imposible, p53 promueve la apoptosis de la célula.

Cuestión 7: c. La disminución en la expresión de las cadherinas favorece el desarrollo de las metástasis, ya que estas proteínas mantienen unidas las células e impiden su movimiento.

Cuestión 8: c. Los pacientes afectados con el síndrome de Li-Fraumeni heredan una forma mutada de *p53*, lo cual les predispone a sufrir diversos tipos de cánceres.

Cuestión 9: e. La proteína Ras no actúa como factor de transcripción, sino que actúa como una proteína G con actividad GTPasa.

Cuestión 10: b. El producto de erbB es el receptor del factor de crecimiento epidérmico con actividad tirosina *quinasa*.

Capítulo 30

Cuestión 1: b. Generalmente, salvo las inmunoglobulinas, las proteínas plasmáticas se sintetizan en el retículo endoplásmico de los hepatocitos.

Cuestión 2: c. La síntesis se realiza en forma de proalbúmina en el retículo endoplásmico hepático.

Cuestión 3: d. La anemia falciforme (HbS) se produce cuando un glutamato en posición 6 de la cadena beta se sustituye por una valina.

Cuestión 4: c. La mioglobina es una hemoproteína monomérica localizada en el músculo, con propiedades cinéticas, que facilitan que actúe de intermediaria para la transferencia de oxígeno entre la oxihemoglobina y las células musculares.

Cuestión 5: c. Existen diversas teorías, todavía incompletas, para explicar el hecho comprobado de que la anemia falciforme actúa como un factor que produce mayor resistencia hacia los efectos mortales de la malaria. En la Hb S, la posición 6 de la cadena β está ocupada por valina.

Cuestión 6: b. Siendo todo lo demás cierto, sin embargo, el sustrato adecuado para la enzima no es el succinato, sino el succinilCoA.

Cuestión 7: a. La de Günther es una porfiria recesiva eritropoyética, debido al fallo en la urógeno III cosintasa, lo que produce acumulaciones de derivados de tipo I en heces, orina y sangre.

Cuestión 8: e. La hemooxigenasa produce monóxido de carbono; la bilirrubina es transportada por la albúmina; la haptoglobina es una proteína transportadora; la biliverdina es transformada intracelularmente en bilirrubina.

Cuestión 9: e. Se incrementará la bilirrubina conjugada y se dificultará la llegada de la bilirrubina al intestino y su conversión en metabolitos coloreados, presentes en heces y orina.

Cuestión 10: c. Tanto el fibrinógeno, como el factor X son componentes de la vía común.

Cuestión 11: a. La vía común conduce desde el factor X a la fibrina, con la participación de varios componentes, tales como la protrombina, el fibrinógeno y el factor XIII.

Cuestión 12: a. Efectivamente es así, teniendo lugar el proceso de transamidación entre las cadenas laterales de lisina y glutamina de moléculas diferentes de fibrina.

Capítulo 31

Cuestión 1: a. Un antígeno es una sustancia que se une a un anticuerpo específico, mientras que un inmunógeno es una sustancia que, inoculada a un animal, induce la respuesta inmunitaria. De acuerdo con esta definición, todos los inmunógenos son también antígenos, pero no todos los antígenos son también inmunógenos, por ejemplo, los haptenos.

Cuestión 2: a. La unidad básica de una Ig está formada por dos cadenas ligeras idénticas entre sí y dos cadenas pesadas, también, idénticas entre sí.

Cuestión 3: c. La afinidad viene determinada por la fuerza de unión entre un determinante antigenógeno y el sitio de unión al antígeno del fragmento Fab de la Ig.

Cuestión 4: c. La especificidad para un antígeno reside en el sitio de unión al antígeno, que está configurado por las zonas hipervariables de los dominios variables de las cadenas pesadas y ligeras.

Cuestión 5: c. Para el dominio V de la cadena pesada: $200 \times 25 = 5000$; Para el dominio V de la cadena ligera: $100 \times 30 = 3000$; para el sitio de unión al antígeno (dominios V_H y V_L) $5000 \times 3000 = 15$ millones.

Cuestión 6: a. Los factores de degradación de C3 y C4 se unen de modo covalente a las superficies activadoras de complemento (microorganismos) y favorecen la fagocitosis, pues éstos son reconocidos por receptores para los mismos, que se expresan en la membrana de células fagocitarias.

Cuestión 7: b. Véase la Figura 31-10.

Cuestión 8: b. Las moléculas encargadas de presentar péptidos son las de MHC. Concretamente, las de MHC de clase II se expresan en células presentadoras de antígeno profesionales y presentan péptidos procedentes de proteínas exógenas a los linfocitos CD4.

Cuestión 9: d. Las moléculas del complejo CD3 solamente se expresan en la membrana de linfocitos T, mientras que la molécula CD8 se expresa en linfocitos T citotóxicos, por tanto, una célula que exprese ambas a la vez será un linfocito T citotóxico.

Capítulo 32

Cuestión 1: d. Las mitocondrias o sarcosomas abundan más en los músculos rojos de contracción lenta, que son ricos en mioglobinas y citocromos intramitocondriales.

Cuestión 2: c. El sarcómero es la unidad funcional muscular, que se repite a lo largo de la miofibrilla cada 2.3 micrómetros de longitud.

Cuestión 3: a. La estructura del sarcómero está determinada por la existencia de dos clases de filamentos proteicos que interaccionan entre sí: los gruesos poseen un diámetro de unos 15 nm, mientras que el diámetro de los delgados es de unos 7 nm.

Cuestión 4: c. Los iones de calcio se unen a la cadena troponina C de la troponina.

Cuestión 5: d. El calcio se une a la troponina C, lo que produce un cambio conformacional que se va transmitiendo a los otros integrantes del complejo y, después, a la tropomiosina, lo que controla la interacción actina-miosina.

Cuestión 6: c. Durante la contracción muscular disminuye la longitud del sarcómero, pero ello no es debido a la causa aducida, sino a que se produce un solapamiento entre los filamentos gruesos y los delgados.

Cuestión 7: a. La troponina consta de varias subunidades que, junto con la tropomiosina, intervienen en la regulación de la contracción muscular por los iones de calcio.

Cuestión 8: e. Las reservas energéticas disponibles de un modo inmediato poseen una cuantía muy limitada. El catabolismo anaeróbico del glucógeno también es relativamente rápido, aunque no tanto como el uso directo del ATP o el del fosfato de creatina.

Cuestión 9: e. Primero, la forma preponderante de suministro energético es el ATP y el fosfato de creatina, pero, como máximo al minuto, ya es superada por la glicólisis anaerobia y, aproximadamente, tras los dos primeros minutos, la primacía le corresponde a los sistemas aerobios.

Cuestión 10: b. A través del sistema adenilato ciclase se activa la glucógeno fosforilasa y se inactiva la glucógeno sintasa.

Cuestión 11: c. El entrenamiento conduce a mejorar, entre otros aspectos homeostáticos, los sistemas bioquímicos implicados específicamente en cada tipo de actividad.

Cuestión 12: b. Durante el ejercicio, la elevación de la adrenalina y la noradrenalina, junto con la de glucagón, y la subida transitoria del cortisol, estimulan los procesos metabólicos que contribuyen al mantenimiento de la glucemia. Ello supone una estimulación de la glucogenólisis y neoglucogénesis hepática, y la movilización de las reservas lipídicas. Otros procesos hormonales implicados en la adaptación al ejercicio, tales como la secreción de ADH por la hipófisis, tienden al equilibrio hídrico. Esta secreción está activada en respuesta a un aumento en la presión osmótica de la sangre.

Capítulo 33

Cuestión 1: c. La lisina (Lys) es un aminoácido básico que no tiene actividad neurotransmisora.

Cuestión 2: a. Las células gliales ocupan aproximadamente 9 décimas partes del sistema nervioso, con funciones varias, entre las que se encuentra la de sostén, y se dividen en macróglia y microglía, según el tamaño celular. Las principales son macrógliales.

Cuestión 3: d. Los canales dependientes de ligando son típicos de las sinapsis. La transmisión intraneuronal a lo largo del axón se basa casi exclusivamente en canales dependientes de voltaje, puesto que se abren como consecuencia de un cambio en el potencial de membrana por la entrada de Na^+ .

Cuestión 4: b. Una vez superado el valor umbral, cualquier señal produce como respuesta la generación del potencial de acción, cuya magnitud es independiente de la intensidad de la señal que lo originó.

Cuestión 5: a. El potencial de acción, o despolarización, se genera muy rápidamente, pasando el potencial de membrana de negativo a positivo, como consecuencia de la apertura de canales para el Na^+ . Cuando éstos se cierran, y los de K^+ se abren, se produce la hiperpolarización.

Cuestión 6: a. Sodio y potasio son los dos iones más abundantes en los líquidos corporales. El Na^+ extracelular y el K^+ intracelular están a concentración mayor de 100 mM, mientras que el Na^+ intracelular y el K^+ extracelular están al menos 10 veces más diluidos.

Cuestión 7: c. El potencial de reposo depende de esos iones pues son los de mayor diferencia de concentración y permeabilidad; es negativo, ya que la membrana en reposo es más permeable al K^+ ; el potencial de equilibrio para Na^+ y K^+ es positivo y negativo, respectivamente.

Cuestión 8: c. El muscarínico es el receptor de la acetilcolina; el β -adrenérgico, de la adrenalina y, con menor afinidad, de otras catecolaminas.

Cuestión 9: b. El glutatión es un tripéptido ubicuo, con propiedades reductoras y sin actividad como neurotransmisor, cotransmisor o neuromodulador.

Cuestión 10: d. Las melaninas de las células del epitelio pigmentado podrían contribuir a la calidad de la visión en situaciones de luminosidad elevada. Su ausencia se relaciona con algunos problemas de visión en los individuos albinos.

Cuestión 11: a. El potencial de reposo de las células receptoras es de -40 mV, y su carácter negativo se limita por la entrada de Na^+ a favor de gradiente, a través de un canal abierto en ausencia de luz. El gradiente se mantiene gracias a una ATPasa.

Cuestión 12: e. El 11-cis-retinal y el todo-trans-retinal son isómeros, por lo que tienen la misma fórmula estructural y el mismo número de átomos. Su capacidad de absorción se debe a la presencia de un sistema de dobles enlaces conjugados.

Cuestión 13: c. La opsina posee la estructura típica de una proteína integral de membrana acoplada a proteínas G, que es común a más de 1000 proteínas receptoras distintas conocidas, incluyendo receptores hormonales, olfativos, entre otros, con siete fragmentos transmembrana.

Cuestión 14: c. La *retinol isomerasa* convertidora de isómeros *trans* en *cis* en el epitelio pigmentado reconoce las formas alcohólicas, pero no los aldehídos. Así, la síntesis de 11-cis retinal requiere la producción previa de 11-cis-retinol desde el todo-trans-retinol.

Cuestión 15: c. La absorción de luz provoca la isomerización de 11-cis retinal a todo-trans-retinal, que induce un cambio conformacional en la proteína porque sus dimensiones moleculares son distintas de las del isómero *cis*.

Cuestión 16: e. La transducina es una proteína G con estructura trímera típica. Su activación supone el intercambio de GDP por GTP y la liberación de la subunidad alfa, que interaccionará, posteriormente, con una fosfodiesterasa.

Cuestión 17: c. Los canales para sodio son dependientes de GMPc. La activación de una *fosfodiesterasa* tras la fotooxidación disminuye los niveles de este mensajero, lo que conlleva el cierre de los canales y la hiperpolarización de la membrana del fotorreceptor.

Cuestión 18: e. La arrestina participa en el proceso de inactivación de la rodopsina uniéndose fuertemente a la rodopsina previamente fosforilada por la rodopsina quinasa. El complejo resultante no posee capacidad de activar la transducina.

Capítulo 34

Cuestión 1: c. La vitamina C es necesaria para la acción de la *lisil y prolil hidroxilasa*. El fibroblasto segregá las cadenas en forma de trímeros de tropocolágeno inmaduros. Las *endopeptidasas* son necesarias, pero son extracelulares.

Cuestión 2: a. Véase la Tabla 34-1 para comprobarlo. En todos los casos, la unidad es siempre tropocolágeno, aunque con diferencias en sus cadenas constituyentes.

Cuestión 3: c. Las condrodisplasias se deben a alteraciones del colágeno de tipo II, y el latirismo se produce por inhibición de las enzimas hidroxilasas y oxidases.

Cuestión 4: e. La elastina es muy abundante en las paredes de los vasos sanguíneos. Es pobre en hidroxiprolina, pero rica en glicina y alanina, y contiene desmosina que necesita de la acción de la lisil oxidasa para crear los residuos de lisinal.

Cuestión 5: c. El tetrasacárido es correcto, pero puede formar enlaces glicosídicos con otros hidroxilos, por ejemplo, los de treonina.

Cuestión 6: d. La hialadherina es una familia de proteínas, entre las que se encuentran las proteínas enlazantes de los aggrecanos.

Cuestión 7: b. El síndrome de Marfan se debe a alteraciones de la fibrilina.

Cuestión 8: c. Las integrinas son las que contienen repeticiones de tipo III con el tripeptido RGD.

Cuestión 9: c. El tejido cartilaginoso contiene colágeno de tipo II, no está vascularizado ni inervado, es más higroscópico que el hueso y las únicas células que contiene son condrocitos.

Cuestión 10: a. La alopecia es la ausencia de pelo, y las otras ausencias no tienen nombres específicos. El aumento en el grosor de la uña, desde la base hasta el borde, se llama paquioniquia.

Cuestión 11: c. La tirosina y la cisteína son los aminoácidos precursores de las feomelaninas, mientras que la *dopacromo tautomerasa* participa en la síntesis de eumelaninas y la vitamina D no participa en la melanogénesis.

Cuestión 12: d. La maduración del colágeno es un proceso postraduccional, en el que intervienen varias enzimas modificadoras de aminoácidos, entre las que no se encuentra la *glicina oxidasa*.

Cuestión 13: c. Se conocen más de un centenar de estos tipos de alteraciones. La musculatura poco desarrollada y la debilidad general son características de las miopatías, entre las que se encuentran las distrofias musculares y las miotónicas.

Cuestión 14: b. El síndrome de Marfan se da en individuos que suelen ser altos y delgados, con escasa musculatura y que presentan aracnodactilia. Se ha sugerido que un afectado ilustre pudo ser Abraham Lincoln.

Cuestión 15: e. Es heterogéneo, en cuanto a síntomas y gravedad, englobando a una serie de manifestaciones en las que falla el proceso de maduración de las fibras en el que intervienen diversas enzimas. Pero nunca es debido a un aumento de la degradación del colágeno.

Cuestión 16: d. El ácido hialurónico tiene enlaces β , y la condroitina no presenta restos de glucosamina, sino de galactosamina.

Capítulo 35

Cuestión 1: e. Los huesos son una reserva de calcio por la actividad osteoclástica, que es activada por la PTH. El hidroxiapatito dental es tan cristalino o más que el óseo y el esmalte es más duro.

Cuestión 2: b. La hipofosfatasia consiste en una carencia genética de *fosfatasa alcalina*, enzima precisa para que se acumule fosfato, a partir de metabolitos fosforilados, en las vesículas matriciales. Esta carencia conduce al raquitismo.

Cuestión 3: d. El esmalte es el tejido calcificado con mayor porcentaje de apatito y más cristalino.

Cuestión 4: b. El esmalte es diferente del resto de los tejidos, con mucho menor colágeno y mayor cristalinidad. La dentina es mayoritaria en el diente, y la fijación a las fibras la realiza, básicamente, el cemento.

Cuestión 5: e. El origen de estos tejidos es mesodérmico, los osteoblastos son precursores de los osteocitos, propios del hueso, y odontocito es un término más general que cementoblasto.

Cuestión 6: d. 1 Equivalente-gramo = Peso atómico/valeancia. En el caso del calcio, 1 Eq/L = 20 g/L.

Cuestión 7: a. La concentración de calcio en plasma, a diferencia del fosfato, apenas varía de 2.5 mM y hasta el 40% está unido a proteínas; el derivado más activo es el 1,25-dihidroxcolecalciferol, formado con intervención de la piel, el hígado y el riñón.

Cuestión 8: a. El 1,25-dihidroxcolecalciferol aumenta la absorción renal de esos iones, la parathormona aumenta sus concentraciones plasmáticas y la calcitonina tiene efectos opuestos.

Cuestión 9: d. La PTH se libera inversamente al nivel de calcemia, la calcitonina no tiene efecto sobre la absorción intestinal de dicho ion; la forma de excreción mayoritaria para el calcio y el fosfato son las heces.

Cuestión 10: c. El contenido en agua de estos tejidos es siempre menor del 8%, y el esmalte es el tejido de mayor contenido mineral y más bajo en agua y colágeno.

Cuestión 11: a. Las fosfoforinas están en la dentina, la osteocalcina contiene γ -carboxiglutamato, las esmaltinas son minoritarias y las amelogeninas tienen un gran contenido en prolina y glutamato.

Cuestión 12: b. Son los iones F^- los que se sitúan en el mismo plano, mientras que los OH^- se desvían ligeramente, por su carácter diatómico.

Cuestión 13: a. Todas las proposiciones son ciertas, y sólo la hidroxilasa renal es poco específica, dando otros dihidroxicalciferoles menos activos, como el 24,25-DHCC.

Cuestión 14: d. La PTH se libera de células de las paratiroides, en una cantidad inversamente proporcional al nivel de calcemia.

Cuestión 15: a. La calcitonina es una hormona hipocalcémica porque, entre otras acciones, inhibe la acción de movilización de los depósitos óseos.

Capítulo 36

Cuestión 1: e. Las únicas inmunoglobulinas que contiene la saliva son de tipo A, las de tipo G son plasmáticas.

Cuestión 2: a. La estaterina es un péptido anfipático que tiene una cara hidrofílica y otra, hidrofóbica. Ello inhibe la formación del cristal de fosfato cálcico y la correspondiente precipitación de esta sal en cualquiera de sus formas.

Cuestión 3: a. Los radicales se generan, principalmente, del peróxido de hidrógeno, que, a su vez, es producido por los neutrófilos y utilizado como sustrato oxidante por la *peroxidasa*.

Cuestión 4: c. El pirofosfato inhibe la cristalización de fosfato cálcico, y la capacidad reguladora se debe a las parejas de iones de fosfato monoácido/diácido y bicarbonato/carbónico.

Cuestión 5: d. Además de otros componentes minoritarios y que dependen de la firma comercial o la posible especialización, todos contienen sales y detergentes de acción limpiadora y antisépticos.

Cuestión 6: d. Las curvas de Stephan y la teoría de Kleinberg están permutadas en las proposiciones a y c.

Cuestión 7: a. La xerostomía o «boca seca» es una inhibición total de la secreción de saliva. Favorece la caries puesto que una de las funciones de la saliva es la de neutralizar el pH y lavar las bacterias y toxinas que se liberan en la boca.

Cuestión 8: c. Sólo el 80% de la población contiene aglutinógenos salivales, que por su especificidad son útiles en pruebas periciales de identificación.

Cuestión 9: a. La sacarosa es el único disacárido común en la dieta que contiene el enlace glicosídico entre 2 carbonos anoméricos, por lo que su hidrólisis proporciona más energía que otros.

Cuestión 10: a. Las principales acciones anticariogénicas del flúor son las mencionadas. Las dos últimas están relacionadas, ya que el *Streptococcus mutans* es muy dependiente del transporte protonmotorizado.

Cuestión 11: a. La *arginina desiminasa* actúa sobre la arginina para producir putrescina y amoníaco, compuestos básicos que contribuyen a subir el pH de la placa dental.

Cuestión 12: e. El compuesto más cariogénico es la sacarosa, por la energía que proporciona la hidrólisis de su enlace glicosídico. Para el resto de los azúcares mencionados, la acción cariogéna no está demostrada.

Cuestión 13: e. La bacteria *Streptococcus mutans* es productora de mutanos insolubles, puesto que contiene una enzima que forma enlaces glicosídicos $\alpha(1 \rightarrow 3)$. El componente mayoritario de la placa son polisacáridos, los azúcares son fermentados y los levanos se forman por una levano sacarosa.

Capítulo 37

Cuestión 1: b. Son más frecuentes las situaciones patológicas en las que aumentan los niveles séricos de alguna enzima, que las situaciones en las que dichos niveles disminuyen.

Cuestión 2: a. Efectivamente, el NADH tiene un máximo relativo a 340 nm, que no está presente en el espectro de absorción de NAD⁺ y que permite una medida espectrofotométrica sencilla y sensible.

Cuestión 3: c. Las alteraciones de las *aminotransferasas* son características de la enfermedades hepáticas. Las alteraciones de la próstata no manifiestan alteraciones de estas enzimas.

Cuestión 4: d. La *glucosa oxidasa* oxida la glucosa a gluconato y agua oxigenada. Ésta, en presencia de un reductor (ABTS) y *peroxidasa*, da un producto coloreado cuantificable por medida de absorbancia a 610 mn.

Cuestión 5: c. Debido a su capacidad de hidrolizar los coágulos de fibrina, la *estreptoquinasa* ha sido empleada en la oclusión arterial, la embolia pulmonar y el infarto de miocardio.

Cuestión 6: d. La administración oral de una enzima es inadecuada, pues se trata de proteínas que serían digeridas e inactivadas. Su indicación suele ser en tratamientos cortos.

Cuestión 7: c. La transferencia de Western es una técnica aplicable a la detección de proteínas y aporta información sobre el tamaño de la proteína a analizar, pero no puede emplearse para la determinación de metabolitos. El radioinmuunoanálisis, que combina la sensibilidad de los trazadores radiactivos con la especificidad de las uniones antígeno-anticuerpo, es la más sensible de las técnicas inmunoquímicas.

Cuestión 8: b. Debido a su sensibilidad y especificidad, el radioinmuunoanálisis es la técnica de elección para la determinación de hor-

monas, que suelen encontrarse en concentraciones muy bajas en la sangre. Esta utilidad se basa en las propiedades de la unión antígeno-anticuerpo, pero no tiene nada que ver con las características de la unión de las hormonas a sus receptores fisiológicos celulares.

Capítulo 38

Cuestión 1: c. El envejecimiento es un proceso fisiológico, genéticamente modulado, con una importante participación de los factores ambientales.

Cuestión 2: e. La longevidad es la máxima duración de la vida para los individuos de una especie. La esperanza de vida es un valor estadístico de supervivencia.

Cuestión 3: c. El número de genes del nematodo es un pequeño porcentaje de los genes probables existentes en los seres humanos.

Cuestión 4: d. En las mitocondrias es donde esencialmente tiene lugar el metabolismo oxidativo intracelular.

Cuestión 5: a. Aunque todos esos factores y otros muchos más guardan relación con el envejecimiento, en ningún caso se ha establecido una clara relación causa-efecto entre un determinado factor y el envejecimiento.

Capítulo 39

Cuestión 1: b. Hace unos 4.6 mil millones de años se formó la Tierra y la evolución prebiótica fue relativamente rápida de modo que las primeras formas de vida primitiva comenzaron transcurridos menos de mil millones de años después de tal formación.

Cuestión 2: d. Extinguidas las formas primitivas de vida dejaron bioseñales sobre las rocas donde se asentaron, en las que se pueden realizar investigaciones sobre su datación.

Cuestión 3: e. Se han realizado multitud de procesos sintéticos de biomoléculas y se ha comprobado la presencia de muchas de ellas o de sus precursores en cometas y meteoritos.

Cuestión 4: c. La primera fotosíntesis usó compuestos como H₂S como donadores de electrones. La fotólisis del agua y el enriquecimiento atmosférico en oxígeno muy reactivo favoreció su consumo y uso energético por cadenas transportadoras de electrones.

Cuestión 5: a. Todos los procesos implicados en la microevolución favorecen la macroevolución.

Cuestión 6: e. Los dendrogramas comparan secuencias moleculares homólogas de diferentes organismos.

GLOSARIO DE TÉRMINOS USADOS EN BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR

III

A

Absortividad molar: Véase Lambert-Beer, ley de.

Abzima: Anticuerpo con actividad enzimática.

Acetilasa de histonas: Enzima que modifica, mediante acetilación, residuos lisina de las histonas.

AcetylCoA: Intermediario de dos átomos de carbono participante en el metabolismo de los hidratos de carbono y los ácidos grasos, unido mediante un enlace rico en energía de hidrólisis a la coenzima A.

Acetilcolina: Neurotransmisor liberado en las sinapsis colinérgicas.

Ácidos biliares: Ácidos anfipáticos derivados del colesterol.

Ácidos grasos: Ácidos carboxílicos de cadena larga.

Ácidos grasos esenciales: Aquéllos que no pueden ser fabricados por tejidos de mamífero.

Ácido nucleico: Molécula polimérica compuesta de unidades nucleotídicas unidas entre sí por enlaces fosfodiéster. Las cadenas de ADN (ácido desoxirribonucleico) y de ARN (ácido ribonucleico) difieren en que contienen desoxirribosa y ribosa, respectivamente.

Acidosis: Alteración patológica del equilibrio ácido-base del organismo en la que se produce una disminución del pH del medio interno. Según su origen, puede ser metabólica (producida por disfunciones renales o anomalías del metabolismo) y respiratoria (producida por alteraciones o problemas originados en las vías respiratorias).

Acrecentador: Véase potenciador.

Actina: Proteína mayoritaria de los filamentos musculares.

Activadores: Proteínas que participan en la activación transcripcional de un gen, a través de su unión a un intensificador. Sustancias que aumentan la actividad de una enzima.

Actividad específica: Medida de la pureza de una preparación enzimática, expresada normalmente en U/mg de proteína.

Actividad óptica: Propiedad que tienen las moléculas con carbonos asimétricos cuando están disueltas, de desviar un cierto ángulo la luz polarizada.

Acuaporina: Proteína integral de membrana que proporciona canales para el movimiento rápido de agua a través de la membrana plasmática.

Adaptadores cortos: Oligonucleótidos sintéticos bicatenarios que pueden unirse a los extremos de fragmentos de ADN para originar sitios reconocibles por las enzimas de restricción.

Adenoma: Neoplasia benigna de tejido epitelial.

Adipocito: Célula de tejido adiposo almacenadora de grasas.

ADN (ácido desoxirribonucleico): Polímeros compuestos de cuatro unidades moleculares diferentes, denominadas desoxirribonucleótidos (abreviados A, G, C y T), que contienen el azúcar desoxirribosa. Los genes son parte de las moléculas de ADN y su codificación viene dada por la secuencia de los desoxirribonucleótidos.

ADNasas: Enzimas que degradan moléculas de ADN.

ADN complementario (ADNc): Cadena complementaria de ADN copiada a partir de una de ARN mediante la enzima transcriptasa inversa.

ADN girasa: Topoisomerasa bacteriana de ADN.

ADN ligasa: Enzima que une extremos de las cadenas de ADN, mediante la formación de enlaces fosfodiéster entre ellos.

ADN polimerasa: Enzima que agrega nucleótidos a una cadena de ADN en sentido de 5' a 3'. Como molde de copiado, la enzima usa una monohebra de ADN.

ADN recombinante: Molécula de ADN que contiene segmentos de distintos orígenes (pueden ser biológicos o sintetizados químicamente). Para su generación los segmentos de ADN se unen utilizando procedimientos de laboratorio.

Adrenalina: Molécula derivada del aminoácido L-tirosina, con actividad neurotransmisor y hormonal. Pertenece al grupo de las catecolaminas o aminas biógenas.

Aerobio: Proceso u organismo que requiere la presencia de oxígeno.

Afidicolina: Inhibidor de la replicación del ADN nuclear.

Agonista: Sustancia que mimetiza los efectos biológicos de un compuesto natural al unirse a un receptor.

Akt: Proteína quinasa B.

Albúmina: Proteína globular soluble en agua, muy abundante en el plasma de mamíferos y aves y en los tejidos de reserva, como los huevos de las aves.

Alcaloide: Molécula orgánica natural, derivada de aminoácidos y normalmente básica, producida por los hongos y las plantas. Muchos alcaloides poseen actividad biológica y son utilizados en terapéutica.

Alcalosis: Alteración patológica del equilibrio ácido-base del organismo en la que se produce un aumento del pH del medio interno. Según su origen, puede ser metabólica (producida por disfunciones renales o anomalías del metabolismo) y respiratoria (producida por alteraciones o problemas originados en las vías respiratorias).

Aldosa: Monosacárido con un grupo funcional aldehído.

Alelo: Cada una de las formas alternativas de un gen.

Almidón: Polisacárido de origen vegetal formado por unidades de glucosa mediante enlaces glicosídicos α (1→4) y α (1→6).

Alotípicos: Polimorfismos alélicos que pueden ser detectados por anticuerpos específicos para los productos génicos polimórficos.

Alosterismo: Comportamiento de algunas enzimas, transportadores, receptores y otras proteínas, caracterizado por curvas de saturación sigmoides para alguno de sus ligandos, como consecuencia de cooperatividad en su unión.

Ameloblastina: Proteína formada y segregada por los ameloblastos para la formación del esmalte dental.

Amelogeninas: Proteínas ricas en glutamato y prolina, formadas y segregadas por los ameloblastos y que son esenciales para la formación del esmalte dental.

Amilasa: Hidrolasa digestiva que degrada el almidón y glucógeno hasta maltosa, maltotriosa y dextrina límite.

Amilosa: Polisacárido lineal de residuos de glucosa unido por enlaces glicosídicos.

Amilopectina: Polímero ramificado de glucosa con enlaces $\alpha(1 \rightarrow 4)$ y $\alpha(1 \rightarrow 6)$.

Amina biogénica: Sustancia obtenida a partir de la descarboxilación de un aminoácido, que actúa como hormona o neurotransmisor.

Aminoácido: Molécula que contiene un grupo amino y otro ácido, generalmente un carboxilo. Cuando ambos están sobre el mismo carbono, se llaman α -aminoácidos. Todas las unidades estructurales de los péptidos y las proteínas son aminoácidos.

Aminoacil-ARNt: Molécula de ARNt que porta un aminoácido utilizable para extender una cadena polipeptídica.

Aminotransferasas: Enzimas que catalizan reacciones de transaminación.

Amplificación: Aumento del número de copias de un gen o de una secuencia de ADN. Aumento en la amplitud de la respuesta celular ante un estímulo, por ejemplo, tras la unión específica hormona-receptor.

Anabolismo: Conjunto de los procesos metabólicos biosintéticos.

Anaerobio: Proceso o célula que funciona en ausencia de oxígeno.

Anafase: Fase de la mitosis y la meiosis, caracterizada por la segregación hacia los polos de los cromosomas hijos.

Aneuploidía: Dotación cromosómica no múltiplo exacto de la haploide.

Anfipático: Compuesto que posee propiedades hidrofílicas e hidrofóbicas.

Anfolito: Molécula con grupos ácidos y básicos disociables.

Angiogénesis: Proceso de formación de nuevos vasos a partir de otros preexistentes.

Anomería: Estereoisomería producida por la formación de un enlace hemiacetálico, al ciclar un monosacárido y crearse un centro de asimetría en el carbono inicialmente carbonílico.

Anotación: Identificación de los genes en un genoma.

Antagonista: Sustancia que contrarresta los efectos biológicos de un compuesto natural al unirse a un receptor.

Antibiótico: Sustancia tóxica para un microorganismo.

Anticuerpo: Cualquiera de las proteínas del sistema inmunitario presentes en la sangre de los vertebrados, que se unen a las sustancias generalmente extrañas al organismo (antígenos).

Anticodón: Secuencia de tres bases situada en la parte intermedia de los ARNt, que interacciona por enlaces con puentes de hidrógeno con las bases complementarias del codón en el ARNm.

Anticuerpo monoclonal: Anticuerpo producido por un clon de linfocitos B. A diferencia del policlonal, que es una mezcla de anticuerpos que reaccionan con diversos determinantes antigenicos, cada anticuerpo monoclonal posee una única especificidad.

Antígeno: Cualquier molécula que puede unirse específicamente a un anticuerpo.

Antígenos de histocompatibilidad: Son proteínas de membrana celular que median el rechazo de los trasplantes de tejidos alo-génicos. Están codificados por los genes MHC.

Antígeno nuclear de células proliferantes (PCNA): Proteína que aumenta la procesividad de la ADN polimerasa δ.

Antimetabolito: Agente quimioterapéutico que interfiere con la acción de un metabolito esencial.

Antioncogén (gen oncosupresor): Gen que codifica una proteína que inhibe la proliferación celular.

Antioxidante: Sustancia que evita la oxidación de otras moléculas.

Antiporte: Transporte de sustancias distintas en direcciones opuestas, a través de una membrana.

Apareamiento incorrecto: Formación de un par de bases diferente a los de Watson y Crick.

Apareamientos de tipo Watson y Crick: Formación de pares A-T y C-G mediante enlaces por puentes de hidrógeno.

Apatito: Forma cristalina compleja de fosfato cálcico, principal constituyente de los huesos y dientes. Según el anión que acompaña al fosfato, se llama hidroxiatapato (casi exento de flúor) o fluorapatito (con cantidades significativas de flúor, aunque normalmente también contiene iones hidroxilo).

Apoenzima: Fracción proteica de las enzimas que contienen un cofactor, desprovista del mismo y catalíticamente inactiva.

Apoptosis: Tipo de muerte celular controlada y dirigida genéticamente, que normalmente tiene una función biológica precisa. Se denomina también *muerte celular programada* y es una parte esencial del desarrollo.

Apoptosoma: Complejo multiproteico implicado en la ejecución de la muerte celular por apoptosis, en el que intervienen junto al citocromo c otras proteínas, como Apaf-1 (factor activador de proteasas de apoptosis 1) y procaspasa 9. La formación del complejo conduce a la activación de caspasa 9, con la consiguiente activación de caspasas ejecutoras.

Aptámero: Molécula de ARN que une de manera específica un ligando.

ARN (ácido ribonucleico): Polímero compuesto de cuatro unidades moleculares diferentes denominadas ribonucleótidos (abreviados, A, G, C y U), que contienen el azúcar ribosa.

ARN antisentido: ARN con secuencia complementaria a un ARNm que forma con él un ARN bicatenario.

ARNasas: Véase ribonucleasas.

ARN citoplasmático pequeño (ARNsc): Moléculas pequeñas de ARN citoplasmático que se asocian a proteínas específicas formando complejos, que colaboran en el tráfico intracelular de las proteínas.

ARN de transferencia (ARNt): Moléculas pequeñas de ARN que sirven para transportar aminoácidos específicos hacia el lugar de la síntesis proteica.

ARN guía: ARN de tamaño pequeño que participa en la maduración de ARNr.

ARN interferente pequeño (ARNsi): Molécula de ARN bicatenario de tamaño pequeño, sintética o derivada de un ARN celular bicatenario de mayor tamaño, que facilita la degradación de moléculas de ARNm con las que interacciona.

ARN mensajero (ARNm): Cadena de ARN que, al ser descodificado, da lugar a una proteína.

ARN micro (ARNmi): ARN monocatenario de tamaño pequeño (alrededor a 20 nucleótidos), derivado de un pre ARN micro de mayor tamaño, que se une a una secuencia complementaria del ARNm, interfiriendo en su lectura o estimulando su degradación.

ARN heterogéneo nuclear (ARNhn): Conjunto de transcritos primarios, localizados en el núcleo, antes de la maduración, generados por la transcripción de genes.

ARN nuclear pequeño (ARNsn): Moléculas pequeñas de ARN nuclear que se asocian a proteínas específicas formando complejos, que colaboran en la acción de los espliceosomas.

ARN nucleolar pequeño (ARNsno): ARN guía que participa en la modificación del ARNr en el nucleolo.

ARN polimerasa: Enzima que elabora una copia de ARN a partir de un ADN de molde.

ARN ribosómico (ARNr): ARN componente del ribosoma, junto a diversas proteínas.

ARN temporal pequeño (ARNst): ARN micro que se aparea de forma incompleta con un ARNm, entorpeciendo su traducción.

Arqueobacterias: Uno de los 3 grandes dominios de organismos vivos. Grupo de procariotas diferentes a las eubacterias, que suelen vivir en medios con condiciones extremas.

Atenuación: Mecanismo de control de la transcripción de genes procaríoticos que incluye la terminación prematura de la misma.

ATPasa: Hidrolasa que transforma el ATP en ADP y fosfato.

ATPasa Na⁺/K⁺: Transportador mediado activo primario, ubicado en las membranas plasmáticas de casi todas las células de mamífero, que expulsa Na⁺ al exterior e importa K⁺ al interior, al objeto de conseguir un gradiente de concentración de ambos iones a ambos lados de la membrana, que resulta fundamental para el funcionamiento celular.

Autorradiografía: Método de detección de moléculas marcadas radiactivamente sobre una película de rayos X.

Autosoma: Cualquier cromosoma que no sea un cromosoma sexual.

Autótrofo: Organismo vivo capaz de nutrirse exclusivamente mediante moléculas inorgánicas. Los autótrofos se dividen en dos grupos: quimiolítrofros, que obtienen la energía por oxidación de la materia inorgánica, y fotolítrofros, que fijan la energía de la luz solar.

Auxótrofo: Cepa de un microorganismo que depende de un determinado nutriente que no es requerido por la cepa original, generalmente como consecuencia de una mutación inactivadora en una enzima biosintética.

Avitaminosis: Carencia grave de una vitamina o grupo de vitaminas.

Axón: Prolongación de una neurona por la que transmite impulsos a otras células efectoras.

Axonema: Haz de microtúbulos y proteínas asociadas rodeado por una membrana, que es prolongación de la membrana plasmática y conectado a un cuerpo basal que constituye su anclaje en el interior de la célula. Forma el núcleo estructural de un cilio o un flagelo en la célula eucariótica y es responsable de su movimiento.

B

Bacteriófago: Virus que infecta a las bacterias. Con frecuencia se le denomina, sencillamente, fago.

Balance de nitrógeno: Parámetro empleado en el crecimiento de células u organismos, resultado de la diferencia entre el nitrógeno total ingerido y el excretado durante un período de tiempo, generalmente, un día.

Bandeadoo G: Técnica para ver un patrón de bandas en los cromosomas, al teñirlos con Giemsa.

Bandeadoo Q: Técnica para ver un patrón de bandas en los cromosomas, al teñirlos con quinacrina.

Base nitrogenada: Porción de un nucleótido del ADN o del ARN. Las cuatro bases del ADN son la adenina (A), la timina (T), la guanina (G) y la citosina (C). En el ARN, el uracilo (U) sustituye a la timina.

Biblioteca de ADN recombinante (Genoteca): Población de moléculas idénticas de vector, en la que cada una de estas moléculas es portadora de un inserto de ADN diferente. En su conjunto, los diferentes insertos pueden representar un genoma completo (por ejemplo, una biblioteca genómica humana), o bien una colección de ARN mensajeros aislados, a partir de un tipo particular de célula y convertidos en los correspondientes ADN complementarios (en cuyo caso, se habla de una biblioteca de ADNc).

Bicapa lipídica: Forma natural de ordenarse los principales componentes de las membranas biológicas, los fosfolípidos, en un entorno acuoso, que sirve de molde para que, sobre ella, se estucture la totalidad de la membrana.

Bilirrubina: Pigmento procedente de la degradación oxidativa del grupo hemo, liberado por la destrucción de los eritrocitos, de color rojo anaranjado.

Bilis: Líquido almacenado en la vesícula, compuesto fundamentalmente por sales biliares, fosfolípidos, pigmentos biliares y colesterol, que se vierte en el intestino delgado.

Bilis litogénica: Aquella cuya presencia de colesterol supera la solubilidad de ese lípido, lo que induce su deposición y posterior cristalización, tanto en la vesícula biliar como, en los cañículos, que acaba obstruyendo el vertido de la bilis al intestino.

Bioenergética: Disciplina que estudia las transformaciones energéticas de los seres vivos.

Biomolécula: Molécula constituyente de los seres vivos.

Bioquímica analítica: Parte de la Bioquímica que se ocupa del análisis cualitativo y cuantitativo de las biomoléculas. En su vertiente clínica, se ocupa de la aplicación de los métodos bioquímicos de laboratorio a la prevención, el diagnóstico y el seguimiento de las enfermedades.

Biosintética-secretora (ruta o vía): Vía seguida por las proteínas de secreción y por las pertenecientes al RE, el aparato de Golgi, la membrana plasmática y los lisosomas, desde que comienzan a sintetizarse en los ribosomas del retículo endoplásmico rugoso hasta su destino final. Durante su tránsito por la ruta biosintética-secretora, las proteínas sufren modificaciones posttraduccionales y adquieren su conformación madura biológicamente activa.

Blotting: Inmovilización de ADN, ARN o proteínas en una superficie de papel o membrana porosa para facilitar su estudio.

C

Cadena adelantada (guía o líder): Cadena de ADN neosintetizado que se va sintetizando continuamente durante la replicación.

Cadena respiratoria: conjunto de proteínas de membrana y de transportadores móviles de menor tamaño, con capacidad de transportar electrones, que permiten la transferencia secuencial exergónica de los electrones procedentes de coenzimas reducidos hasta el oxígeno molecular.

Cadena retrasada (rezagada): Cadena de ADN neosintetizado, pero que se va formando por la unión de los fragmentos de Okazaki.

Cadherina: Proteína que media la adhesión celular dependiente de calcio.

Caja TATA: Secuencia de ADN hallada en muchos promotores, que es reconocida para el inicio de la transcripción.

Calmodulina: También, denominada proteína reguladora dependiente de Ca^{2+} . Proteína ubicua que une Ca^{2+} , y que actúa como regulador de sistemas cuyo funcionamiento depende de las concentraciones de este ion. La unión de Ca^{2+} determina que la calmodulina se pueda unir, a su vez, a otras proteínas, modificando su actividad.

Canal iónico (conducto iónico): Estructura proteica que permite el paso de iones a través de las bicapas lipídicas constituyentes de las membranas biológicas.

CAP: Proteína activadora de genes catabólicos. Se activa por el AMPc y estimula la transcripción de una serie de operones catabólicos en *E. coli*.

Caperuza (capuchón): Estructura en el extremo 5' de los ARNm, que contiene un residuo de guanina metilado.

Cápside: Cubierta proteica de un virus.

Caquexia: Atrofia metabólica del organismo y debilidad graves, asociada frecuentemente a los estados cancerosos.

Carcinogénesis: Proceso de desarrollo de un carcinoma.

Carcinoma: Neoplasia maligna de tejido epitelial.

Cariotipo: Cantidad y características del juego completo de cromosomas de un organismo.

Carnitina: Molécula que actúa como transportador de ácidos grasos, desde el citoplasma hasta el interior de la mitocondria, para su oxidación.

L-Carnitina: Compuesto fundamental para conseguir que los acilCoA de los ácidos grasos entren en la mitocondria para ser degradados por las enzimas de la β -oxidación.

Caspasa: Proteína perteneciente a una familia de proteasas intracelulares, responsables de la regulación y ejecución de la muerte celular por apoptosis. Normalmente inactivas, se activan por proteólisis en respuesta a estímulos apoptóticos. El término hace referencia a las propiedades catalíticas de estas enzimas, ya que «c» denota que se trata de *cisteína proteasas*, y «aspasa», que cortan enlaces peptídicos situados tras un residuo de ácido aspártico.

Catabolismo: Conjunto de procesos metabólicos de degradación.

Catalasa: Enzima que participa en la conversión del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno.

Catálisis ácido-base: Tipo de catálisis implicado en reacciones en las que el estado de transición contiene una carga eléctrica inestable, que es compensada o estabilizada gracias a la presencia en el medio de ácidos o bases capaces de intercambiar protones.

Catálisis covalente: Tipo de catálisis en el que un grupo químico de la enzima ataca al sustrato formando un intermedio covalente, normalmente inestable y muy reactivo, que evoluciona rápidamente hasta el producto.

Catepsinas: Proteasas lisosómicas.

CD (grupos de diferenciación): Grupos de anticuerpos monoclonales que identifican moléculas de superficie celular. Cada molécula se designa por las siglas CD seguidas de un número.

CDK: Proteína quinasa dependiente de ciclina.

Cebador: Secuencia corta de nucleótidos que proporciona el punto de iniciación para que las ADN polimerasas copien una secuencia de nucleótidos y elaboren una doble cadena.

Célula plasmática: Es la célula terminal de la serie de linfocitos B. Su función es secretar anticuerpos.

Célula troncal (célula madre): Célula que, al dividirse, genera células hijas con una capacidad evolutiva completa.

Celulosa: Polisacárido lineal de origen vegetal formado por unidades de glucosa unidas mediante enlaces glicosídicos $\beta(1 \rightarrow 4)$.

Centro activo: Zona bien delimitada de las proteínas enzimáticas, responsable de la catálisis, donde se une el sustrato durante el ciclo catalítico.

Centrómero: Región del cromosoma que separa los brazos corto y largo del mismo.

Centrosoma: Estructura de las células animales que participa en la organización de los microtúbulos durante la mitosis. Contiene un par de centriolos.

Cerebrósido: Lípido complejo perteneciente al grupo de los esfingolípidos, compuesto por una unidad de ceramida, formada por una molécula de esfingosina unida a un ácido graso por un enlace amida, y una cabeza polar constituida por un monosacárido.

Cetoacidosis: Acidosis producida por la acumulación de cuerpos cetónicos.

Cetosa: Monosacárido con un grupo funcional cetona.

Chaperonas: Proteínas que intervienen en el plegamiento y ensamblaje de otras proteínas.

Ciclina: Proteína cuya concentración experimenta cambios cíclicos a lo largo del ciclo celular, implicada en el control de éste. Existen varios tipos, y cada fase del ciclo celular se corresponde con una dotación de ciclinas característica. Las ciclinas actúan por unión y activación de *quinasas dependientes de ciclina*.

Ciclo celular: Secuencia de acontecimientos por los que una célula duplica su dotación cromosómica completa y se divide en dos células semejantes, con el mismo material genético.

Ciclo de Calvin: Conjunto cíclico de reacciones de la fase oscura de la fotosíntesis, por el que el CO_2 se fija en forma de gliceraldehído-3-fosfato.

Ciclo de Cori: Ciclo que se establece entre el músculo y el hígado, en el que el lactato procedente de la glicólisis anaerobia muscular es transformado en glucosa por el hígado y liberado de nuevo al torrente circulatorio para su reutilización.

Ciclo de Krebs (ciclo de los ácidos tricarboxílicos): Conjunto cíclico de reacciones exergónicas que, en condiciones aerobias y en el interior de las mitocondrias, conduce a la oxidación completa del acetato hasta CO_2 , con producción de coenzimas reducidas.

Ciclo de Krebs-Henseleit (ciclo de la urea): Conjunto cíclico de reacciones, propio de los organismos ureotélicos, que transforma el ion amonio procedente de la degradación de aminoácidos en urea, para su eliminación. Fue la primera ruta metabólica cíclica que se caracterizó en su totalidad.

Cis: Expresión utilizada para indicar dos secuencias de ácido nucleico, relacionadas funcionalmente, que se encuentran cercanas en el cromosoma. Se opone a *trans*.

Citoquinas: Grupo numeroso de moléculas de señalización intercelular de naturaleza proteica, de expresión inducible, que regulan el crecimiento y la diferenciación de muchos tipos celulares.

Citocromos: Proteínas que poseen grupos hemo y que participan en procesos de oxidación-reducción, a través de cambios reversibles en el estado de oxidación del átomo de hierro presente en el grupo hemo.

Citoesqueleto: Red estructural de organización interna que presentan las células eucarióticas y que se encuentra implicada en el transporte interno, en la motilidad y en la morfología celular. En el citoesqueleto intervienen tres tipos diferentes de componentes: microfilamentos (70 Å de diámetro), los filamentos intermedios (70-110 Å de diámetro) y los microtúbulos (300 Å de diámetro).

Clatrina: Proteína fibrosa que polimeriza en la cara citosólica de determinadas vesículas, formando una estructura semejante a un enrejado.

Cloroplastos: Orgánulos de las células vegetales donde se produce la fotosíntesis.

Clon: Población de organismos, células, virus o moléculas de ADN derivados de la replicación de un único progenitor genético.

Clonación: Procedimiento que permite la obtención de un clon.

Coactivador: Factor proteico que media en la acción de los activadores transcripcionales.

Cociente respiratorio: Relación entre el volumen de CO₂ espirado y el oxígeno inspirado en un determinado período.

Código genético (o clave genética): Código que relaciona secuencias específicas de tres nucleótidos (codones) en el ADN, o en el ARNm, con aminoácidos específicos en una proteína.

Codón: Tres nucleótidos consecutivos de una cadena de ADN o de ARN, que especifican un aminoácido particular o el comienzo o el final de una región codificante.

Codón iniciador: Codón ATG (en el ADN) o AUG (en el ARN), que señalan el comienzo de una pauta de lectura y el sitio del inicio de la traducción.

Codones de detención (terminación o paro): Codones del código genético que señalan el final de una pauta de lectura y el sitio donde acaba la traducción: TAA, TGA y TAG en el ADN, o UAA, UGA y UAG en el ARN.

Coeficiente de extinción molar: Véase Lambert-Beer, ley de.

Coenzima: Molécula orgánica no proteica de bajo peso molecular, necesaria para la acción de algunas enzimas.

Coenzima A: Coenzima derivada del ácido pantoténico, que participa en la transferencia de grupos acilos.

Cofactor: Componente de naturaleza no proteica de muchas enzimas, normalmente imprescindible para su actividad catalítica.

Cohesinas: Proteínas que mantienen unidas las cromátides hermanas.

Cola de poli(A): Véase poli(A).

Colágeno: Proteína más abundante del cuerpo humano, que forma parte del tejido conjuntivo y el mineral. Tiene una estructura helicoidal muy específica, rica en glicina, prolina e hidroxiprolina.

Colesterol: Lípido simple de la familia de los esteroides, con un núcleo central de ciclopentanoperhidrofenantreno. Es un componente esencial de las membranas biológicas y el precursor biosintético de otras biomoléculas, como las sales biliares y las hormonas esteroideas.

Complejo principal de histocompatibilidad (MHC): familia de genes que codifican moléculas que intervienen en el procesamiento y la presentación de antígenos a los linfocitos T y otros aspectos de la defensa del huésped.

Complemento: Conjunto de proteínas plasmáticas que se activan en cascada y actúan de forma conjunta para atacar las formas extracelulares de los patógenos y promover la reacción inflamatoria aguda.

Concentración micelar crítica: Concentración característica de cada tipo de lípido polar u otras moléculas anfipáticas, por encima de la cual las moléculas se asocian en medio acuoso formando distintos tipos de agregados de tipo micelar.

Concertado (modelo): El modelo más sencillo para explicar el comportamiento alóstérico, propuesto en 1965 por Monod, Wyman y Changeux.

Condensinas: Proteínas que participan en la condensación del cromosoma antes de la mitosis.

Configuración: Posición relativa de grupos sustituyentes en una molécula orgánica que contiene dobles enlaces o centros quirales.

Conformación: Ordenamiento espacial de los grupos funcionales con capacidad de rotación libre en una biomolécula.

Constitutivo: Producido en cantidades constantes.

Contacto focal: Zona de la membrana de las células eucarióticas, en la que se agrupan las integrinas en respuesta a estímulos extracelulares. Estas zonas son responsables de la fuerte adhesión a la matriz extracelular, a la vez que participan en procesos de comunicación intercelular.

Cóntigos: Clones de ADN genómico con secuencias solapantes, que representan una región continua del genoma.

Control respiratorio: Regulación de la respiración por la concentración de ATP.

Conversión génica: Tipo de recombinación entre dos regiones de ADN prácticamente homólogas, en la cual una de las secuencias de ADN es cambiada (convertida) para ajustarse a la otra secuencia. El proceso también se denomina «corrección de secuencia». Puede tener lugar dentro de un mismo cromosoma o entre dos cromosomas.

Cooperatividad: Fenómeno característico de las proteínas alóstéricas que unen varias moléculas de un determinado ligando, por el que la unión de una molécula de ligando facilita (cooperatividad positiva) o dificulta (cooperatividad negativa) la unión de las siguientes.

COP: Proteína de revestimiento (*coated protein*) de determinadas vesículas de transporte retrógrado y anterógrado entre el RE y el aparato de Golgi.

Correpresor: Proteína (o molécula) que interacciona con el represor para que éste ejerza su función represora.

Corte y empalme (splicing): Proceso de eliminación de los intrones de las moléculas de ARN y de unión de los exones para formar un ARN funcional.

Cósmido: Vector artificial, constituido por un plásmido y por las secuencias *cos* del fago lambda, que permite clonar secuencias de ADN.

Cotraduccional: Modificación que se produce en la cadena polipeptídica, al mismo tiempo de su síntesis.

Cotransporte: Tipo de transporte activo en el que dos o más moléculas o iones son movilizadas a través de una membrana biológica por el mismo transportador de forma simultánea, en el mismo sentido (simporte) o en direcciones opuestas (antiporte).

Cremallera de leucina: Dominio rico en leucina de proteínas, que permite la interacción entre ellas formando dímeros que, a su vez, interaccionan con el ADN.

Cromatina: Complejo formado por proteínas nucleares y ADN cromosómico altamente compactado.

Cromosoma artificial de levadura (YAC): ADN recombinante que posee secuencias que permiten su mantenimiento en células de levaduras y hace posible la clonación de regiones muy grandes de ADN.

Cromosomas: Estructuras presentes en el núcleo celular, que contienen una doble hélice de ADN lineal muy condensada, asociada a proteínas.

C-terminal: Extremo de la cadena polipeptídica que presenta el grupo α -carboxilo del último aminoácido libre.

Cuerpos cetónicos: Acetona, acetoacetato o β -hidroxibutirato formados por la acumulación de acetil-CoA.

D

Dedo de Zn: Estructura característica encontrada en las proteínas, presentes en todos los organismos eucarióticos, con restos de cisteínas a distancias determinadas que pueden quelatar Zn, y que son fundamentales para la regulación de la expresión génica.

Degenerado: Término que al referirse al código genético alude al hecho de que más de un codón puede especificar un aminoácido de particular.

Delección: Supresión, eliminación, de uno o más nucleótidos o aminoácidos en una cadena polinucleótida de ADN o polipeptídica, respectivamente.

Delección intersticial: Pérdida de un fragmento intermedio de un cromosoma.

Dendrita: Prolongación aferente que parte del cuerpo celular de las neuronas y otros tipos celulares.

Desacetilasas de histonas: Sistema enzimático que elimina grupos acetilos de las lisinas acetiladas pertenecientes a histonas.

Desacoplador: Sustancia que evita la síntesis de ATP sin afectar la respiración.

Desnaturalizar: Alterar la conformación nativa de los ácidos nucleicos o de las proteínas. La desnaturalización del ADN o del ARN desenrolla y separa las dos hebras de una doble hélice o rompe la estructura secundaria monocatenaria. Las proteínas desnaturalizadas pierden su estructura cuaternaria y terciaria.

Detergente: Molécula anfipática con capacidad de emulsionar grasas en medio acuoso y de solubilizar proteínas hidrofóbicas y membranas biológicas.

Diabetes mellitus dependiente de insulina: Enfermedad ocasionada por una disminución de la capacidad de producción de insulina, debida a una lesión irreversible de las células pancreáticas productoras, por factores genéticos, infecciones virales o respuestas autoinmunitarias.

Diacilglicerol: Éster formado por la unión del glicerol con dos ácidos grasos que esterifican dos grupos hidroxilo. También, llamado diacilglicérido o DAG.

Diálisis: Proceso de difusión selectiva, a través de una membrana semipermeable. Se utiliza para separar solutos de bajo peso molecular (que son capaces de atravesar los poros de la membrana dialítica) de otras macromoléculas que, por su mayor tamaño, no pueden hacerlo.

DICER: Complejo enzimático participante en la formación de ARN micro.

Diferenciación: Conjunto de procesos por los que las células precursoras adquieren características fenotípicas y funcionales propias y especializadas, y que suele producirse como consecuencia de cambios cualitativos y cuantitativos en la expresión génica.

Difusión: Fenómeno estrictamente físico por el que un compuesto permeable atraviesa una membrana biológica, sin interaccionar con ningún componente de dicha membrana, hasta que su concentración a ambos lados de la membrana se iguala.

Digestión: Proceso hidrolítico efectuado por hidrolasas, que tiene lugar en el sistema digestivo de los mamíferos, gracias al cual las biomoléculas de la dieta son degradadas a compuestos absorbibles por el intestino.

Dinamina: Proteína citosólica con actividad GTPasa que interviene en la separación de las vesículas recubiertas de clatrina del *Trans-Golgi*.

Diploide: Hace referencia a una célula o un organismo que contiene dos juegos completos de cromosomas homólogos.

Disacárido: Hidrato de carbono, formado por la unión de dos monosacáridos.

Displasia: Crecimiento desordenado caracterizado por el cambio de tamaño, forma o grado de diferenciación de las células de un tejido.

Doble híbrido de levadura: Sistema de análisis basado en levaduras, que permite detectar interacciones específicas entre diferentes proteínas.

Dolicol pirofosforil oligosacárido: Lípido polisoprenoide transportador de un oligosacárido complejo, que participa en la *N*-glicosilación de proteínas de la ruta secretora.

Dominio: Región bien definida de una proteína o ácido nucleico que tiene una función específica.

Dot blot: Técnica que permite diferenciar si una muestra biológica contiene una secuencia de ácido nucleico o proteína concreta. Para ello se enfrenta directamente la muestra con una sonda o anticuerpo marcados que reconozca y se una específicamente al ADN o proteína objeto de estudio.

Dúplex: Dos cadenas complementarias de ácidos nucleicos.

E

Eadie-Hofstee (representación de): Método de linearización de la ecuación de Michaelis-Menten, en el que se representa $V/[S]$ frente a V , obteniéndose una recta de pendiente $-1/K_M$, que corta los ejes de abscisas y ordenadas en $V_{\text{máx}}$ y $V_{\text{máx}}/K_M$, respectivamente.

Ectodermo: Tejido embrionario precursor de la epidermis y del sistema nervioso.

Editado de ARN: Proceso de modificación enzimática de bases en la secuencia codificante del ARNm.

Efecto Bohr: Modificación en la liberación y captación de oxígeno por parte de la hemoglobina, en función del pH y la presión parcial de dióxido de carbono.

Efecto Cabtree: Inhibición del consumo de oxígeno como consecuencia del funcionamiento de la glicólisis, que se da sobre todo en células tumorales, en las que promueve la fase anaerobia de la vía glicolítica.

Efecto hipercrómico: Aumento de la absorbancia de luz UV (260 nm) que se produce al desnaturalizar el ADN bicatenario.

Efecto Pasteur: Efecto de inhibición de la glicólisis, como consecuencia de la producción de energía metabólica por la respiración celular. Este efecto está considerablemente reducido en las células tumorales, respecto a las células normales.

Eicosanoides: Moléculas derivadas del ácido araquidónico (prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos).

Elastasa: Endoproteasa que participa en la degradación de diferentes proteínas, entre ellas, la elastina.

Elastina: Proteína del tejido conjuntivo, en especial del que reviste los vasos sanguíneos.

Electroforesis: Método de separación de moléculas que consiste en someter la mezcla a un campo eléctrico de manera que las moléculas migrarán más o menos, según su tamaño y carga eléctrica. Se puede utilizar para separar o purificar proteínas o fragmentos de ARN o ADN.

Electroforesis bidimensional: Técnica de separación ortogonal de proteínas mediante isoelectrofoque y PAGE.

Electroforesis en gel con campo pulsante (EGCP o PFGE): Técnica electroforética para separar moléculas de ADN muy grandes, mediante la alteración periódica de la dirección del campo eléctrico, a través del cual migran las muestras.

Electrólito: Sustancia que, en estado líquido o en disolución, conduce la corriente eléctrica por contener iones libres, que se transportan a través de ella cuando se aplica a la disolución una diferencia de potencial.

Electroporación: Técnica consistente en someter las células a un choque eléctrico con el fin de aumentar la permeabilidad de sus membranas y permitir la entrada de moléculas de gran tamaño, como proteínas o genes.

Elemento de respuesta a hormona (HRE): Secuencia de ADN localizada en la región promotora de algunos genes que es reconocida específicamente por factores de transcripción regulados por hormonas, permitiendo convertir el estímulo hormonal en un cambio en el nivel de expresión del gen.

Elemento silenciador: Dominio de ADN en la región reguladora de un gen que actúa disminuyendo la transcripción, independientemente de su orientación o sitio en el promotor.

Elementos móviles: Segmentos de ADN capaces de desplazarse de un sitio a otro en un genoma; también se les da el nombre de elementos transponibles, transposones o de «genes saltadores».

Elonguinas: Proteínas que participan en el crecimiento de las cadenas de ARN que se sintetizan en el núcleo celular.

Enantiómero: Cada uno de los dos isómeros que tienen todos sus carbonos asimétricos con configuración contraria y, por tanto, uno es imagen especular del otro.

Endergónico: Proceso químico no espontáneo que consume energía.

Endocitosis: Proceso de captación activa de moléculas de tamaño grande o partículas situadas en el exterior de una célula, que se verifica por unión a la cara externa de la membrana plasmática, invaginación de la membrana y formación de una vesícula endocítica, que se introduce en el interior de la célula.

Endonucleasa de restricción: Enzima que corta el ADN por secuencias internas, específicas y cortas (generalmente, fragmentos de 4, 6 u 8 pares de bases) y que origina extremos romos o cohesivos.

Energía libre: Forma útil de energía capaz de realizar trabajo.

Enterocito: Célula del intestino responsable de la absorción de nutrientes.

Enfermedad de Hartnup: Se debe a la carencia o disfunción de los transportadores intestinales y glomerulares para aminoácidos neutros. El resultado es una acidemia (aciduria) neutra apreciable.

Enfermedades por almacenamiento lisosómico: Grupo de trastornos genéticos, normalmente autosómicos recesivos, debidos a la deficiencia de una o más enzimas lisosomales.

Entrecruzamiento: Interacción entre dos cromosomas homólogos, en la que se intercambian parte de los mismos (y, en consecuencia, de su ADN bicatenario).

Enlace covalente: Unión química fuerte en la que un par de electrones son compartidos por los dos átomos enlazados.

Enlace éster: Enlace covalente entre un grupo ácido y un alcohol.

Enlace fosfodiéster: Enlace en el que una molécula de ácido fosfórico actúa como puente entre dos moléculas hidroxiladas distintas, al establecer una unión éster con cada una de ellas. Es característico del esqueleto de los ácidos nucleicos.

Enlace glicosídico: Enlace éster entre dos grupos hidroxilo con pérdida de una molécula de agua, esencial para la formación de oligosacáridos y polisacáridos.

Enlace peptídico: Enlace covalente de tipo amida establecido entre el grupo amino y el carboxilo de los aminoácidos.

Enlaces por puentes de hidrógeno: Enlace no covalente en el que un átomo de hidrógeno unido covalentemente a un átomo electronegativo es compartido parcialmente con otro átomo electrónico.

Ensayo acoplado: Ensayo de actividad enzimática, en el que el producto formado por la enzima a analizar se utiliza como sustrato de una segunda enzima, que se añade al medio como parte de la mezcla de reacción, y que transforma el producto inicial en un segundo compuesto más fácil de cuantificar.

Ensayo continuo: Tipo de ensayo de actividad enzimática en el que se monitoriza, a lo largo del tiempo de reacción, la variación de alguna magnitud física, que sea una función de la cantidad de producto formado o de sustrato desaparecido.

Ensayo discontinuo: Tipo de ensayo de actividad enzimática en el que la mezcla de reacción se deja evolucionar durante un tiempo determinado antes de detener la reacción para cuantificar posteriormente la concentración de producto o de sustrato.

Entropía: Magnitud termodinámica que proporciona una medida del desorden de un sistema.

Enzima: Catalizador específico de naturaleza proteica presente en todos los seres vivos.

Energía de activación: Diferencia entre la energía libre del estado de transición y la del sustrato. Su valor es siempre positivo y constituye una barrera energética para el transcurso de la reacción.

Epigenético (proceso): Modificación de la expresión genética por medio de cambios heredables pero reversibles, en el patrón de metilación del ADN o en la estructura de la cromatina.

Epimería: Isomería en la que cambia sólo la configuración de uno de los varios carbonos asimétricos presentes en la molécula del monosacárido.

Epitelio: Tejido de revestimiento monoestratificado o pluriestratificado que recubre superficies internas o externas, y constituye las glándulas de secreción endocrinas y exocrinas.

Epítopo: Es la zona situada en la superficie de un antígeno, reconocida por el anticuerpo o el receptor antigénico de un linfocito. También se llama determinante antigénico.

Eritrocito: Glóbulo rojo, hematíe.

Escinucleasa: Endonucleasa que participa en el proceso de reparación del ADN mediante el mecanismo de escisión.

Esfingolípido: Grupo de lípidos complejos derivados de la esfingosina, unida a un ácido graso por un enlace amida, y a una estructura polar de tamaño variable que confiere características anfipáticas.

Especies reactivas oxigenadas (ROS): Sustancias altamente reactivas que contienen oxígeno, como el peróxido, superóxido y radical hidroxilo, formadas en el metabolismo celular aerobio.

Espectrometría de masas: Técnica analítica en la que se bombardean las moléculas con un haz de electrones energéticos, que las ioniza y las rompe en fragmentos. Éstos son separados en función de su relación de masa a carga, y producen señales proporcionales a su abundancia relativa.

Espliceosoma: Partícula subcelular en la que tienen lugar las reacciones de remodelación (*splicing*) de los precursores nucleares de los ARNm.

Estado estacionario: En una reacción enzimática, se refiere al intervalo de tiempo en el que, tras un aumento inicial de la concentración del complejo enzima-sustrato, ésta permanece constante porque la velocidad de formación del complejo es igual a la suma de las velocidades de las reacciones que lo descomponen.

Estado de transición: Estado intermedio en una reacción química, en el que se están rompiendo determinados enlaces del sustrato o formándose otros que aparecen en el producto. El estado de transición está en equilibrio con el sustrato, y posee una energía libre superior.

Esteatorrea: Heces decoloradas muy ricas en productos de la digestión de los lípidos, fundamentalmente jabones (sales) de ácidos grasos, que pueden deberse a bilis litogénica persistente.

Ester: Sustancia formada por reacción entre un ácido y un alcohol orgánicos, con eliminación de una molécula de agua y formación de un enlace de ese nombre.

Esteroides: Lípidos estructuralmente derivados del ciclopentanoperhidrofenantreno. Biosintéticamente, proceden del escualeno y, en su mayoría, del colesterol.

Estructura primaria (secuencia): Número y orden de los nucleótidos en una cadena de ácido nucleico o de los aminoácidos en un polipéptido.

Etapa limitante del flujo: En una ruta metabólica, es la etapa más lenta y la que determina la velocidad del flujo de materia por la ruta en su conjunto. Las etapas limitantes suelen coincidir con reacciones irreversibles situadas al principio de la ruta, y suelen estar estrechamente reguladas.

Eucariota: Organismo cuyas células poseen un núcleo bien diferenciado, separado del citosol por una membrana nuclear, así como orgánulos subcelulares limitados por membranas internas.

Eucromatina: Cromatina poco condensada que permite la actividad transcripcional.

Euploidía: Dotación cromosómica múltiple exacto de la haploide.

Exergónico: Proceso que libera energía.

Exocitosis: Proceso de liberación de material intracelular a través de su inclusión en vesículas que se funden con la membrana plasmática permitiendo la salida de su contenido al medio extracelular.

Exón: Parte de un gen que se retiene en el ARN maduro, funcional. Por lo general, los exones contienen secuencias codificantes para polipéptidos.

Exonucleasa: Nuclease que lleva a cabo la degradación de los extremos de una cadena polinucleotídica.

Exosoma: Complejo enzimático que participa en la degradación de moléculas de ARN.

Exportinas: Proteínas que participan en la salida del ARNm del núcleo celular.

Expresión génica: Fenómeno que incluye la transcripción de un gen en ARNm y su posterior traducción a proteína.

Extremos cohesivos: Terminaciones de las monohebras de ADN, resultado de la digestión con endonucleasas de restricción. Son secuencias cortas y complementarias que permiten la unión de dichos extremos dentro de una misma molécula o de moléculas diferentes.

Extremos romos: Extremos no cohesivos de una molécula de ADN dúplex, en las que las dos cadenas poseen la misma longitud.

F

Factor de crecimiento: Molécula de señalización intercelular, normalmente de naturaleza proteica, que proporciona un estímulo mitógeno a las células diana para impulsar la progresión a través del ciclo celular y la entrada en mitosis. Los factores de crecimiento son imprescindibles para la proliferación de las células eucarióticas, ya que en su ausencia éstas permanecen quiescentes.

Factores de iniciación (FI): Proteínas que participan en el inicio del proceso de traducción, interaccionando con el aminoacil-ARNt iniciador, con el ARNm o con las subunidades ribosomales.

Factores de elongación (FE): Proteínas que unen GTP y que participan en el proceso de elongación de la traducción.

Factores de terminación (RF): También, conocidos como factores de liberación. Son proteínas que participan en la finalización de la traducción, catalizando la hidrólisis del peptidil-ARNt.

Factores de transcripción: Proteínas, diferentes de la ARN polimerasa, que intervienen en la regulación de la expresión génica y que se unen a secuencias específicas en los promotores de los genes eucarióticos.

Factor neurotrófico: Molécula producida en diversos tejidos (músculo, glía, sistema nervioso) que favorece la supervivencia neuronal.

Factores de transcripción generales: Proteínas necesarias para permitir que la ARN polimerasa transcriba un gen en el grado basal de transcripción. Este grado de expresión génica puede ser activado, de manera adicional, por otros factores de transcripción histoespecíficos.

Fago: Nombre corto para bacteriófago, un virus que infecta bacterias.

Fase S: Etapa del ciclo celular eucariótico en la cual se produce la síntesis del ADN.

Fenotipo: Características observables de una célula o un organismo, que son el resultado de la expresión del genotipo celular.

Fermentación: Degradación anaerobia de los azúcares.

Fibrina: Proteína responsable de la formación del coágulo durante el procesos de hemostasia.

Fibroblasto: Tipo celular del tejido conjuntivo que secreta proteínas, como el colágeno.

Fibronectina: Proteína de la matriz extracelular.

Flavoproteínas: Proteínas conjugadas que contienen en su estructura un grupo flavina y que participan en procesos de transferencia electrónica.

Fluorescencia: Propiedad que tienen algunas moléculas de emitir energía tras absorberla, siempre a una longitud de onda mayor de la que absorben.

Fosfatases: Enzimas que catalizan la hidrólisis de ésteres fosfóricos.

Fosfato de piridoxal: Coenzima a base de vitamina B₆, que participa en reacciones de transformación de aminoácidos.

Fosfoglicéricido: Lípido formado por glicerol unido a dos ácidos grasos, fosfato y un grupo polar.

Fosfolípido: Lípido anfipático, constituido por un dominio hidrofóbico y uno polar.

Fosforilación: Adición de un grupo fosfato a una molécula orgánica.

Fosforilación oxidativa: Proceso de síntesis de ATP acoplado al transporte de electrones.

Fragmento de Okazaki: Segmentos cortos de ADN que se producen durante la síntesis de la cadena rezagada del ADN de forma discontinua.

G

Ganancia de función (efecto de): Consecuencia de una mutación que promueve una nueva función de una proteína o un aumento de la actividad de la misma.

Gangliósido: Lípido complejo perteneciente al grupo de los esfingolípidos, compuesto por una unidad de ceramida, formada por una molécula de esfingosina unida a un ácido graso por un enlace amida, y una cabeza polar, constituida por un polisacárido que contiene uno o más restos de ácido siálico.

Gen: Unidad de herencia que especifica un ARN. Un gen también contiene regiones intrónicas y regiones que controlan la transcripción.

Gen delator: Véase gen reportero.

Gen dominante: Gen que se manifiesta fenotípicamente en heterocigosidad.

Gen homeótico: Gen que posee homeodomelios y está relacionado con el control del proceso de diferenciación.

Gen materno: Gen que codifica un factor de transcripción expresa en el oocito fecundado. Los productos de los genes maternos regulan específicamente la expresión de un segundo grupo de genes reguladores del desarrollo durante las primeras divisiones del embrión.

Gen oncosupresor: Véase antioncogén.

Gen reportero (informador o delator): Gen que codifica un producto que puede ser medido con facilidad al introducirlo, por transfección, en una célula.

Gen recesivo: Gen que se manifiesta fenotípicamente de manera exclusiva en homocigosidad.

Genoma: Toda la información genética contenida en una célula, incluyendo a los genes y a otras secuencias de ADN.

Genómica: Disciplina que se encarga del estudio de los genomas.

Genoteca: Véase biblioteca de ADN.

Genotipo: Verdadera composición genética de una célula o un organismo.

Genotipo heterocigoto: Portador de dos alelos distintos en el mismo locus.

Genotipo homocigoto: Portador de dos alelos idénticos en el mismo locus.

Glicerina: 1,2,3-propanotriol. Forma enlaces ésteres con ácidos grasos para generar acilgliceroles.

Glicólisis: Ruta metabólica de transformación de la glucosa en ácido pirúvico.

Glicosidasas: Conjunto de enzimas capaces de hidrolizar el enlace glicosídico.

Glicosilación: Modificación postraduccional de proteínas, común en las proteínas de la vía biosintética-secretora, que se produce por unión covalente de cadenas de oligosacáridos a la cadena lateral de algunos aminoácidos. Existen dos tipos principales: la N-glicosilación y la O-glicosilación.

Glicosiltransferasas: Enzimas del RE y Golgi que transfieren monosacáridos a las proteínas de la ruta secretora.

Glucógeno: Polisacárido de reserva animal, formado por unidades de glucosa unidas mediante enlaces glicosídicos $\alpha(1 \rightarrow 4)$ y $\alpha(1 \rightarrow 6)$.

Glucogenólisis: Transformación enzimática del glucógeno en glucosa.

Glucogenosíntesis: Síntesis de glucógeno a partir de glucosa.

Glucogenosis: Enfermedades del almacenamiento del glucógeno.

Gluconeogénesis: Síntesis de glucosa a partir de moléculas precursoras distintas a los hidratos de carbono.

Glucosa: Aldohexosa que juega un papel importantísimo en el metabolismo celular.

Glutatión: Tripéptido de estructura γ -glutamilcisteinilglicina presente en las células animales en dos estados, reducido u oxidado, y que actúa como regulador del potencial redox de la célula.

Golgi: Aparato de Golgi, formado por la red *Cis* del Golgi, los dictiosomas *cis*, *medial* y *trans* del apilamiento de Golgi y la red *Trans* del Golgi.

Grupos funcionales: Átomos o grupos de átomos que les confieren a las moléculas sus propiedades químicas específicas. Son responsables del comportamiento físico y químico característico de cada tipo de molécula y, por tanto, de cada tipo de compuestos. Entre ellos se encuentran los grupos hidroxilo, carbonilo, carbonilo, éster, etcétera.

Grupo prostético: Parte no proteica de una proteína conjugada, esencial para la actividad biológica de la misma.

GTPasa: Enzima que hidroliza el GTP.

H

Haploide: Célula que posee una sola copia de cada uno de los cromosomas típicos de la especie.

Haplótipo: Serie de alelos presentes en *loci* ligados en un cromosoma.

Haptenos: Moléculas que pueden unirse a los anticuerpos, pero no son capaces por sí mismas de inducir una respuesta inmunitaria específica.

Hebra guía: Véase cadena guía.

Hebra retrasada: Véase cadena retrasada.

Helicasa: Enzima que cataliza el desapareamiento (parcial) de las cadenas de un dúplex de ADN.

Hemo (grupo hemo): Grupo resultante de la unión de un ion Fe(II) a una estructura tetrapirrólica sustituida denominada protoporfirina. Forma parte, entre otras proteínas, de los citocromos y de proteínas transportadoras de oxígeno, como hemoglobina y mioglobina.

Hemoglobina: Principal proteína del interior de los eritrocitos, utilizada por los animales superiores para el transporte de oxígeno.

Hemoproteína: Proteína conjugada que contiene el grupo hemo como grupo prostético.

Hepatocito: Célula del hígado.

Heterocromatina: Región con cromatina muy condensada a lo largo del ciclo celular.

Heterodímero: Dímero formado por dos subunidades diferentes.

Heteroplasmia: Condición en la que coexiste en una misma célula ADN mitocondrial normal y mutado.

Heterótrofo: Organismo que debe obtener parte de las moléculas orgánicas que necesita a partir de otros organismos vivos, por ser incapaz de sintetizarlas a partir de precursores inorgánicos.

Heterocigoto: Condición en la que un genoma diploide presenta dos alelos distintos de un gen particular.

Hibridación: Proceso por el cual dos hebras sencillas complementarias de polinucleótidos se asocian para formar una doble hélice.

Hibridación *in situ* con fluorescencia (HISF o FISH): Técnica para visualizar regiones en cromosomas que se hibridan con sondas específicas de nucleótidos, marcadas por fluorescencia.

Hibridoma: Línea celular inmortal productora de anticuerpos monoclonales, resultante de la fusión de linfocitos B con células de mieloma.

Hidratos de carbono: Moléculas de estructura polihidroxialdeídica o polihidroxicetónica, con fórmula general $(CH_2O)_n$, cuyas funciones más relevantes son las de combustibles metabólicos o elementos estructurales.

Hidroxilación: Proceso por el que se introduce un grupo hidroxilo en una molécula, muy común en el metabolismo.

Hiperplasia: Incremento en el número de células de un tejido u órgano sin alteraciones morfológicas importantes.

Hipervitaminosis: Acumulación excesiva de una determinada vitamina, que puede acarrear consecuencias nocivas.

Hipovitaminosis: Situación de aporte de una vitamina o grupo de vitaminas inferior al requerido.

Hipótesis del balanceo (bamboleo): Capacidad de una molécula de ARNt para reconocer a más de un codón sinónimo, debido al apareamiento relativamente libre entre la tercera base del codón y la primera base del anticodón.

Histocompatibilidad: Grado de similitud en los genes o en los antígenos (HLA y otros) presentes en la membrana de las células y que son responsables del rechazo de los trasplantes.

Histonas: Grupo de proteínas muy conservadas, de naturaleza básica, que en las células eucarióticas le dan al ADN la estructura cromatínica básica.

Holoenzima: Forma completa de la enzima formada por la apoenzima y el cofactor.

Homeobox (homeodomino): Región del ADN, altamente conservada, que codifica un dominio homeótico, que es compartida por los genes homeóticos de diversos organismos. El homeodomino se une a secuencias diana de determinados genes controlados por genes homeóticos.

Homodímero: Dímero formado por dos subunidades idénticas.

Homólogos: Pares de cromosomas o de segmentos de ADN que contienen la misma secuencia lineal de genes o de pares de bases, respectivamente.

Homocigoto: Condición en la que un genoma diploide presenta la misma versión (el mismo alelo) de un gen particular.

Hormona: Molécula de señalización intercelular producida por células especializadas localizadas en las denominadas glándulas endocrinas, que es vertida al torrente circulatorio y transportada hasta las células diana, que responden a la misma gracias a la presencia de receptores específicos.

Hormonas esteroideas: Hormonas de naturaleza esteroide, biosintéticamente derivadas del colesterol. Las principales son los glucocorticoides, mineralcorticoides y las hormonas sexuales femeninas y masculinas.

Hormonas tiroideas: Hormonas sintetizadas en la glándula tiroidea, biosintéticamente derivadas del aminoácido tirosina, que contienen átomos de yodo en su estructura.

Hormonas peptídicas: Hormonas de estructura peptídica que actúan a través de receptores específicos de la membrana plasmática de la célula diana. Su tamaño es variable, pudiendo tratarse de pequeños péptidos o de glicoproteínas de elevada masa molecular.

Horquilla de ARN (hairpin): Estructura del ARN, formada por el apareamiento intracatenario de dos secuencias complementarias separadas por un lazo o bucle de mayor o menor extensión.

Horquilla de replicación: Durante la replicación, región del ADN en la cual las cadenas progenitoras se separan y la ADN polimerasa copia los modelos originales.

HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución.

Hsp: Proteína de choque térmico. Familia de proteínas con actividad chaperona, cuya expresión se induce por temperaturas elevadas y otros tipos de estrés.

Huella de ADN: Patrón de fragmentos de ADN de una región particular de un genoma, obtenido con una nucleasa de restricción particular. Los fragmentos se separan mediante electroforesis en gel y, dependiendo de la secuencia particular del ADN que se examina, el patrón puede ser exclusivo de cada individuo de la especie.

I

Importina: Proteína perteneciente a una familia de receptores de transporte, que reconocen las señales de importación al núcleo contenidas en las proteínas nucleares.

Impronta génica: Condición en la que la contribución génica materna y paterna no son equivalentes funcionalmente.

Inactivación del X: Inactivación de uno de los cromosomas X en las células somáticas femeninas.

Índice de masa corporal: Valor obtenido al dividir el peso, en kg, de una persona por el cuadrado de su altura, expresada en metros.

Inhibición por exceso de sustrato: Tipo de inhibición que se observa en algunas reacciones enzimáticas en las que concentraciones elevadas de los sustratos disminuyen la velocidad de la reacción, en lugar de aumentarla o no afectarla.

Inhibidor acompetitivo: Inhibidor enzimático reversible que carece de afinidad por la enzima libre, pero se une al complejo enzima-sustrato formando un complejo ternario enzima-sustrato-inhibidor, catalíticamente inactivo.

Inhibidor competitivo: Inhibidor enzimático reversible que posee analogía estructural con el sustrato y es reconocido por el centro activo de la enzima.

Inhibidor no competitivo: Inhibidor enzimático reversible que se une a sitios de unión específicos en la molécula de la enzima, distintos del centro activo.

Inmunidad natural (innata): Es aquella de la que dependen las fases más tempranas de la respuesta inmunitaria frente a la enfermedad. Está presente en todo momento y en todos los seres vivos, es inespecífica, no guarda memoria y reconoce componentes microbianos comunes a varios grupos.

Inmunidad específica (adaptativa): Es la ejercida por los linfocitos T y B de manera específica de antígeno. Requiere una fase de latencia, mejora con exposiciones sucesivas al antígeno, es muy eficaz, guarda memoria y funciona de manera coordinada con el sistema inmunitario natural.

Inmunógeno: Compuesto capaz de inducir una respuesta de anticuerpos.

Inositol: Hexahidroxiciclohexano. Sus derivados fosforilados son de gran importancia en procesos de señalización.

Inserción: Adición de un nucleótido o de un fragmento de ADN en un lugar que no le corresponde.

Inserto de ADN: Segmento de ADN unido a un vector de ADN recombinante.

Insulina: Hormona pancreática que regula la glucemia.

Integrina: Proteína perteneciente al grupo más importante de moléculas de adhesión. Las integrinas son heterodímeros $\alpha\beta$, con un dominio extracelular grande, responsable del establecimiento de interacciones específicas, y un único fragmento transmembrana que puede participar en procesos de comunicación intercelular.

Intensificador: Véase potenciador.

Interacciones no covalentes: Fuerzas débiles de unión que se pueden establecer entre iones, moléculas y partes de moléculas y que están implicadas en el mantenimiento de las estructuras tridimensionales de las biomoléculas. Entre ellas se encuentran las fuerzas electrostáticas, polares, hidrofóbicas, de Van der Waals o los enlaces por puentes de hidrógeno.

Interfase: Período que separa dos divisiones celulares sucesivas.

Interferencia por ARN: Alteración de la estabilidad o traducibilidad de un ARNm, mediada por un ARN de pequeño tamaño complementario a una parte de la secuencia del ARNm.

Interferones: El IFN- α y el IFN- β son citoquinas producidas por leucocitos y fibroblastos, respectivamente, aunque no exclusivamente, que pueden inducir en las células un estado de resistencia a la infección y replicación viral. El IFN- γ es producido por los linfocitos T y células NK y su misión principal es activar al macrófago.

Interleuquina (IL): Término genérico utilizado para denominar las citoquinas producidas por los leucocitos.

Intrón: Parte de un gen que no codifica para fragmento alguno del producto final, y que es eliminada (mediante *splicing*) del ARNm maduro funcional.

Ionóforo: Compuesto químico, inicialmente de origen bacteriano, que, ubicado en una membrana biológica, consigue la eliminación de los gradientes iónicos que dichas membranas mantienen.

Islotes CpG: Segmentos cortos de ADN que contienen dinucleótidos CpG no metilados y cuya frecuencia es la esperada.

Isoeléctrico: Véase punto isoeléctrico.

Isoenzimas: Proteínas distintas, producto de genes diferentes, que catalizan una misma reacción.

Isómeros: Moléculas con la misma fórmula molecular, pero con distinta conformación espacial.

Isotipos: Son las distintas clases de inmunoglobulinas de un animal (en el ser humano: IgG, IgA, IgD, IgM e IgE).

Isótopos: Formas de un elemento con idéntica nube electrónica y, por tanto, con las mismas propiedades químicas, pero con diferencias en el número de partículas nucleares y, por tanto, en la masa atómica. Algunos isótopos son inestables y radiactivos.

K

Katal: Unidad de actividad enzimática recomendada por la Comisión de Nomenclatura Bioquímica, que corresponde a la cantidad de enzima que cataliza la conversión de un mol de sustrato por segundo.

King y Altman (representaciones de): Representaciones esquemáticas de las relaciones entre las especies implicadas en reacciones bisustrato.

Klenow: Fragmento de la ADN polimerasa I de *Escherichia coli*, que sólo tiene actividad polimerasa y exonucleasa 3'→5'. Sin embargo, no contiene la actividad exonucleasa 5'→3' de la ADN polimerasa I.

Knockout: Capacidad de eliminar un gen específico en una célula o un organismo por medio de técnicas moleculares.

L

Lactosa: Disacárido de la leche formado por una unidad de galactosa y otra de glucosa unidas por un enlace glicosídico β(1→4).

Lambert-Beer (ley de): Ley que establece la proporcionalidad de la absorbancia de una disolución de un compuesto con su concentración, mediante un factor de proporcionalidad denominado absorvidad molar o coeficiente de extinción molar.

Lanzadera mitocondrial: Sistema de transporte mitocondrial del NADH citóslico que facilita la entrada de la coenzima reducida a la matriz mitocondrial, atravesando para ello las membranas mitocondriales externa e interna.

Lecitina: Fosfolípido derivado de la esterificación del ácido fosfátido con la colina, muy abundante en las membranas celulares.

Lectina: Proteína con afinidad por hidratos de carbono. Presentan especificidad de reconocimiento.

Leucemia: Enfermedad neoplásica de los órganos formadores de las células sanguíneas, caracterizada por la proliferación maligna de leucocitos, eritrocitos o sus precursores en la médula ósea y sangre periférica.

Leucocitos: Glóbulos blancos, células sanguíneas nucleadas que participan en funciones de defensa y que se subclasifican en diferentes grupos, según su acción.

Ligamiento: Tendencia de dos genes muy cercanos en un cromosoma a ser heredados juntos.

Ligando: Molécula pequeña que se une a otra grande de manera específica.

Ligasas: Enzimas que unen los extremos de dos dúplex de ADN o de dos monohebras.

LINE: Secuencias repetitivas largas dispersas por el genoma.

Línea celular: Clon celular bien definido que puede perpetuarse en cultivo, durante muchas generaciones e, incluso, indefinidamente.

Lineweaver-Burk (representación de): Representación de datos de cinética enzimática obtenida por linearización de la ecuación de Michaelis-Menten. Se obtiene representando la inversa de la velocidad de reacción frente a la inversa de la concentración de sustrato y facilita el cálculo de parámetros cinéticos.

Linfocitos: Constituyen un tipo de leucocitos responsables de todas las respuestas inmunitarias adaptativas.

Linfa: Líquido que llena los vasos linfáticos.

Linfoma: Tumor originado en tejido linfóide.

Linfoquinas: Citoquinas producidas por los linfocitos.

Lipasas: Hidrolasas que atacan los enlaces ésteres de los acilgliceroles.

Lipidosis: Enfermedades lisosomales debidas a la carencia congénita de enzimas destinadas a degradar los diferentes lípidos de membrana.

Lipoproteínas: Proteínas plasmáticas cuya función es el transporte de lípidos a través de la sangre. Se clasifican según la densidad y naturaleza del lípido que transportan.

Liposoma: Estructura vesicular cerrada, formada por la suspensión de lípidos anfipáticos, como los fosfolípidos en medio acuoso.

Lisosoma: Orgánulo intracelular caracterizado por su contenido en hidrolasas ácidas, encargado de la degradación y el reciclaje de muchas moléculas y estructuras celulares.

Locus: Posición de un gen determinado en un cromosoma. Los alelos de un mismo gen pertenecen al mismo locus.

LTR: Véase Repeticiones terminales largas.

M

Macrófago: Células fagocíticas grandes que provienen de los monocitos de la sangre y se encuentran en los distintos órganos y tejidos del organismo.

Macromoléculas: Moléculas de elevado tamaño, entre 10^3 y 10^6 Da, constituidas por la unión de numerosas unidades estructurales. Entre ellas se encuentran los polisacáridos, las proteínas, los ácidos nucleicos, las grasas, etcétera.

MALDI-MS: Espectrometría de masas asistida mediante matriz con desorción/ionización por láser, de gran interés para el estudio del proteoma.

MALDI-TOF: MALDI con analizador de tiempo de vuelo.

Manosa-6-fosfato (Man6P): Residuo de manosa fosforilado, presente en algunas proteínas de la ruta biosintética-secretora, que actúa como marcador de las hidrolasas lisosomales. Este marcador se añade a la proteína mientras ésta reside en la red *Cis* del Golgi.

Mapa de restricción: Conjunto de puntos de corte, que un ADN (desde el de un plásmido hasta un cromosoma entero) tiene para unas determinadas endonucleasas de restricción.

Mapa genético: Determinación del orden lineal de los genes a lo largo de un cromosoma.

Mapa molecular: Establecimiento del orden lineal de segmentos de ADN a lo largo de un cromosoma.

Mapeo génico: Elaboración de un mapa de los diferentes *loci* génicos sobre la base de la posición física de unos con respecto a otros.

MAP quinasa (MAPK): Miembro de una familia de proteína quinasas presente en las células eucarióticas, cuya actividad es regulable por estímulos externos, en particular, por factores de crecimiento.

Marco de lectura: Secuencia de nucleótidos en el ADN o en el ARN que puede descodificarse para producir un polipéptido. Las pautas de lectura comienzan con un codón iniciador (AUG en el ARN) y acaban con un codón de paro (UAA, UGA y UAG en el ARN).

Marco de lectura abierto: Serie de codones, en la región codificadora de un gen, comprendidos entre las señales para iniciar y terminar la traducción (véase ORF).

Meiosis: Proceso de división celular reduccional de generación de células haploides, que tiene lugar durante la formación de los gametos.

Melanina: Pigmento de origen polifenólico formada en los melanocitos y con funciones protectoras en la piel y las estructuras sensoriales, como la retina y el oído interno.

Melanoma: Cáncer generalmente muy agresivo y metastático producido por la malignización de los melanocitos.

Mesodermo: Tejido embrionario precursor del músculo, tejido conjuntivo, esqueleto y muchos de los órganos internos.

Metabolismo: Conjunto de las reacciones químicas que tienen lugar en un organismo.

Metafase: Fase de la división celular comprendida entre la profase y la anafase, en la que los cromosomas condensados están reunidos a nivel del centrómero, en una placa en el ecuador de la célula.

Metalochaperonas: Proteínas que transfieren iones metálicos a los centros de unión de determinadas metaloproteínas, mediante interacciones proteína-proteína muy específicas.

Metástasis: Proceso de diseminación, por vía circulatoria (sanguínea o linfática), de células tumorales desde un tumor primario para producir un nuevo crecimiento (tumor secundario), en órganos o regiones distantes del tumor primario.

Metilasas de ADN: Enzimas que catalizan la metilación de ciertas bases nitrogenadas en las moléculas de ADN.

Metilasas de ARN: Enzimas que catalizan la metilación de bases o ribosa en las moléculas de ARN.

Micela: Agregado de moléculas anfipáticas disperso en medio acuoso, en el que la porción hidrofóbica de las moléculas constituyentes queda protegida del medio acuoso, mientras que la porción hidrofílica queda expuesta al solvente.

Michaeliano: Comportamiento cinético que se ajusta a la ecuación de Michaelis-Menten, caracterizado por una dependencia hiperbólica de la velocidad de reacción respecto a la concentración del sustrato.

Michaelis (constante de): Constante que aparece en la ecuación de Michaelis-Menten, característica de un par enzima-sustrato. Físicamente, la constante de Michaelis coincide con la concentración de sustrato para la que se alcanza la mitad de la velocidad máxima.

Michaelis-Menten (ecuación de): Ecuación que relaciona la velocidad de una reacción enzimática con la concentración del sustrato y el valor de velocidad máxima alcanzable.

Micromatriz de ADN: Conjunto de fragmentos de ADN inmovilizados ordenadamente en un soporte sólido, que permite el análisis del nivel de la expresión génica o la detección de mutaciones mediante hibridación con sondas apropiadas.

Microsatélites: Semejantes a los minisatélites, pero con un tamaño alélico menor, en el rango de dos a cuatro nucleótidos. En el genoma humano existen varias decenas de miles, presentándose aproximadamente uno por cada 100 000 pares de bases.

Microsomas: Vesículas pequeñas procedentes de la fragmentación del retículo endoplásmico durante la homogeneización de las células eucarióticas, que pueden obtenerse por ultracentrifugación.

Mielina: Multicapa inerte y blanquecina rica en lípidos que protege las prolongaciones axónicas de las neuronas.

Minisatélites: Variaciones en la cantidad de secuencias de ADN repetitivas en tandem que aparecen en *loci* específicos en diferentes poblaciones. Su tamaño suele ser de 10-30 pares de bases. En el genoma humano existe aproximadamente uno por cada 1 000 000 pares de bases.

Mioglobina: Hemoproteína monomérica presente en las células musculares, encargada de la captación y transporte del oxígeno.

Miosina: Proteína con actividad ATPasa, componente fundamental de la estructura muscular.

Mitocondrias: Orgánulo intracelular presente en las células eucarióticas, caracterizado por una doble membrana con abundantes invaginaciones y crestas en la membrana interna, responsable de las etapas finales de la oxidación de los combustibles metabólicos, la respiración celular y la fosforilación oxidativa.

Mitosis: Proceso de división celular en las células somáticas.

Modelo del guante y la mano: Modelo relativo a la unión de los sustratos al centro activo de las enzimas, según el cual el centro activo tiene potencial suficiente para unir el sustrato, pero no es estrictamente complementario al mismo. Como consecuencia de la unión, algunos enlaces del sustrato o el centro activo se deforman hasta alcanzar una mayor complementariedad. También, denominado modelo del ajuste inducido.

Modelo de la llave y la cerradura: Modelo sencillo para la formación de complejos enzima-sustrato, propuesto en 1890 por Fischer, según el cual la forma del centro activo es perfectamente complementaria a la del sustrato.

Molde: Cadena de ARN o de ADN que es utilizada para dirigir el orden de fijación de los nucleótidos en una nueva cadena polinucleotídica, por apareamiento de bases complementarias.

Monoacilglicerol: Éster formado por el glicerol y un ácido graso esterificando un sólo grupo hidroxilo. También llamado monoacilglicéricido o MAG.

Monómero: Molécula que contiene una única subunidad. En proteínas, una sola cadena polipeptídica.

Monocigótico: Genéticamente idéntico, debido a su origen en la misma célula fertilizada.

Morfógeno: Molécula reguladora del desarrollo embrionario, cuya presencia y concentración en una determinada región dirige la diferenciación de las células presentes en esa zona, hasta dar lugar a una determinada estructura corporal.

Mosaico fluido: Estado semiliquido en el que se encuentran las membranas biológicas gracias a las propiedades de sus componentes, lípidos y proteínas. En dicho estado, la mayoría de esos componentes tiene libertad de movimientos en el plano longitudinal de la bicapa lipídica.

Motivo: Módulo estructural de las proteínas con una estructura espacial precisa, que suele conferirles una función determinada.

Mucina: Glicoproteína salival y de secreciones mucosas.

Mutación: Cambio transmisible en una secuencia de nucleótidos que puede ocasionar una alteración o la pérdida de la función normal de la proteína codificada por esa secuencia de nucleótidos.

Mutación sinónima: Mutación que no produce cambios en la secuencia aminoácida de la proteína.

Mutación terminadora (sin sentido): Mutación que produce la terminación prematura de la síntesis proteica.

Mutante: Gen, o un organismo portador de un gen, que ha adquirido una mutación.

N

Necrosis: Tipo de muerte celular normalmente asociada a un proceso accidental por causas externas a la célula, como agresiones físicas o químicas graves. La necrosis no parece cumplir ninguna función fisiológica y suele afectar a masas celulares dentro de un tejido, más que a células individuales.

Neoplasia: Crecimiento nuevo de tejido en el que no existe un control adecuado de la multiplicación de sus células.

Neurona: Célula especializada en recibir y transmitir señales eléctricas en el sistema nervioso.

Neuropéptido: Péptido con actividad neurotransmisora o neuromoduladora.

Neurotransmisor: Molécula que se une a receptores específicos de alguna subpoblación de neuronas y ocasiona cambios en su potencial de membrana y en su actividad electrofisiológica.

Northern blot: Véase Transferencia Northern.

Nucleasa: Enzima que degrada específicamente moléculas de ácidos nucleicos.

Nucleolo: Pequeño corpúsculo dentro del núcleo de las células, en cuyo interior se ensamblan los ribosomas a partir de los ARN y las proteínas ribosomales.

Nucleósido: Unión de base nitrogenada con ribosa por medio de un enlace *N*-glicosídico.

Nucleosoma: Subunidad de cromatina compuesta por un núcleo de proteínas histonas, rodeadas por alrededor de 146 pares de bases de ADN.

Nucleótidos: Unidades o eslabones moleculares elementales que, enlazados uno a continuación de otro, constituyen los ácidos nucleicos. Químicamente están formados por un azúcar, un grupo fosfato y una base nitrogenada.

Número de recambio: Número de moléculas de sustrato transformadas por segundo y por molécula de enzima.

N-terminal: Extremo de las proteínas correspondiente al primer aminoácido, utilizado durante su biosíntesis y que presenta el grupo α -amino libre o modificado, pero en ningún caso comprometido en un enlace peptídico.

O

Octámero (de histonas): Estructura formada por la agrupación de cuatro pares de histonas sobre la que se pliega el ADN para formar un nucleosoma.

Odontoblastos: Osteoblastos específicos del tejido dental que participan en su génesis.

Oligoelementos: También denominados bioelementos traza. Son bioelementos que aparecen sólo en trazas o en cantidades ínfimas, aunque su presencia es esencial para el correcto funcionamiento del organismo. Su ausencia o escasez determina la aparición de enfermedades carenciales o síntomas de déficit. Entre ellos se encuentran Mn, I, Cu, Co, Cr, Zn, F, Mo, Se, etcétera.

Oligómero: Molécula formada por varias subunidades unidas. Según el número, existen dímeros, trímeros, tetrámeros, etcétera.

Oligonucleótido: Polímero corto de naturaleza nucleotídica, generalmente sintético.

Oligopéptido: Péptido relativamente pequeño formado por varios aminoácidos.

Oligosacárido: Molécula formada por varios monosacáridos unidos por enlaces glicosídicos.

Oncogén: Gen mutado cuya variante normal interviene en el correcto control de la división celular, pero que tras su mutación favorece la inmortalización y transformación celulares.

Oncogén viral: Gen de un genoma vírico que favorece la formación de tumores.

Oocito: Célula original del huevo ovárico antes de la formación de los cuerpos polares.

Operador: Secuencia de ADN adyacente a un gen procariótico que permite que una proteína represora controle la transcripción de ese gen (y, a menudo, también de un grupo de genes consecutivos).

Operón: Conjunto de genes estructurales procarióticas que se transcriben como una unidad y sus secuencias reguladoras correspondientes.

Opsonización: Consiste en la alteración o «marcado» de la superficie de una partícula o de un patógeno para facilitar su fagocitosis.

Organismo transgénico: Animal o planta cuyo genoma ha sido modificado por la introducción de nuevas secuencias de ADN, de modo que la descendencia de ese organismo heredará las nuevas secuencias.

Origen de replicación: Sitio específico del ADN en el cual se inicia su replicación.

Oxido nítrico (NO): Gas producido a partir de arginina, que actúa como vasodilatador del endotelio y regulador del tono vascular.

P

PAGE: Técnica electroforética que permite separar proteínas, en función de la carga eléctrica y el tamaño molecular de las mismas.

Paratopo: Región de un anticuerpo para su unión al epítopo del antígeno.

Par de bases (p.b.): Par de bases (nucleótidos) complementarias en una molécula de ADN o ARN dúplex.

Partícula de reconocimiento de la señal (PRS): Ribonucleoproteína multímérica citosólica que, durante la biosíntesis de las proteínas de la ruta biosintética-secretora, reconoce y se une al péptido señal emergente y a la subunidad grande del ribosoma.

Paseo genómico: Obtención de un mapa de las secuencias del ADN genómico alrededor de un segmento clonado, utilizando los extremos de éste como sondas para clonar (usualmente, de una biblioteca) las regiones contiguas de ADN que se solapan con él.

Pauta abierta de lectura: Véase Marco de lectura.

PCR (Reacción en cadena de la polimerasa): Sistema de amplificación genética que permite obtener millones de copias de un determinado fragmento de ADN o ARNm, del que simplemente se conozcan dos secuencias que lo flanqueen.

PCR de alelo específica: Sistema de PCR que, debido al cebador utilizado, complementario a un alelo concreto de un gen, permite la amplificación de un alelo específico individual y no del resto de alelos posibles.

Plásmido (episoma): Molécula de ADN cerrada, circular, que se multiplica de forma autónoma en la célula y puede pasar de unas células a otras. Es bastante común en las bacterias. Muchos plásmidos, modificados genéticamente, se utilizan como vectores en la clonación molecular.

Peptidasa señal: Proteasa responsable de la eliminación del péptido señal de las proteínas de la ruta biosintética-secretora, localizada en la cara luminal del RE e interaccionando con el translocón. El sitio de corte de las proteínas importadas al RE reconocido por la proteasa señal viene precedido en -1 y -3 por aminoácidos pequeños y sin carga.

- Péptido:** Molécula formada por la unión de aminoácidos mediante enlaces peptídicos.
- Peptidilprolilisomerasa (PPIasa):** Enzima que acelera la rotación alrededor de los enlaces peptidilprolilo en las zonas no plegadas de un polipéptido.
- Péptido señal:** Secuencia señal para las proteínas de la ruta biosintética-secretora, también llamada *secuencia líder*. Es una secuencia de 20-25 aminoácidos, localizada en el extremo amino terminal de la proteína.
- Peroxidasa:** Enzima que es capaz de utilizar peróxido de hidrógeno para oxidar diversos sustratos con funciones muy diversas.
- Peroxisoma:** Orgánulo citosólico relacionado con la formación y destrucción de peróxido de hidrógeno.
- Poli(A) (cola de):** Secuencia de ácido poliadenílico de longitud variable, característica del extremo 3' de los ARNm eucarióticas.
- Poliadenilación:** Adición de múltiples nucleótidos de adenina a los extremos de las moléculas de ARN transcritas.
- Poliaminas:** Policationes orgánicos (putrescina, espermidina y espermina) presentes en todos los tipos de células que participan en la regulación de los procesos de crecimiento, diferenciación y muerte celular.
- Polimerasa (de ADN o ARN):** Enzimas encargadas de sintetizar ADN o ARN a partir de una cadena simple de ADN o ARN, que actúa como molde.
- Polimorfismo de longitud de fragmento de restricción (PLFR o RFLP):** Variaciones, heredables, en la longitud de los fragmentos de ADN de una región específica, obtenidos por acción de enzimas de restricción. Se deben a la aparición o desaparición de dianas de restricción en las secuencias del ADN.
- Polimorfismos genéticos:** Existencia de múltiples variantes de un gen (y, por tanto, de la proteína que codifica). En el ADN humano, aproximadamente 1 de cada 500 nucleótidos es polimórfico (varía de un individuo a otro).
- Polisacárido:** Molécula formada por muchos monosacáridos unidos por enlaces glicosídicos.
- Portador asintomático:** En el caso de las alteraciones genéticas recesivas, se aplica a los individuos que poseen el defecto en un gen, pero al tener un alelo «normal» en el cromosoma homólogo, no desarrollan síntomas de la enfermedad.
- Potenciador:** Dominio de ADN en la región reguladora de un gen que aumenta la transcripción independientemente de su orientación o posición. Interacciona con el activador.
- Primasa:** Enzima encargada de sintetizar el cebador del ARN durante la replicación del ADN.
- Primer (o iniciador):** Véase cebador.
- Prion:** Proteína que presenta características de agente infeccioso, con una alteración estructural que puede transmitirse a otras proteínas del mismo tipo, dando lugar a estructuras anómalas causantes de algunas enfermedades como la encefalopatía espongiforme.
- Prokariota:** Célula que carece de un núcleo bien diferenciado para albergar su material genético, tal como sucede en las bacterias.
- Procesividad:** Característica de las polimerasas de ácidos nucleicos de realizar varios ciclos catalíticos sin separarse del molde.
- Proconvertasa:** Endoproteasa responsable del procesamiento de proproteínas de secreción regulada que, a menudo, sufren más de un corte proteolítico para dar lugar a una o más formas maduras, biológicamente activas.
- Proenzima:** Precursor inactivo de una enzima, que adquiere actividad como consecuencia de un corte proteolítico. También, denominado zimógeno.
- Promotor:** Parte o secuencia de un gen por donde se une la polimerasa de ARN para que comience la transcripción.
- Proproteína:** Precursor inmaduro y biológicamente inactivo de algunas proteínas de secreción, que requiere una proteólisis específica para dar lugar a proteínas maduras o péptidos con actividad biológica.
- Proteasas:** Enzimas que degradan proteínas mediante la ruptura de enlaces peptídicos.
- Proteasoma:** Sistema multiproteico dependiente de ATP que participa en la degradación de proteínas citosólicas de vida media corta.
- Proteína adaptadora:** Proteína que establece una relación entre dos componentes de una vía de señalización, a través de interacciones entre dominios específicos.
- Proteína cebo:** En la técnica de doble híbrido, proteína que se usa para identificar proteínas que interactúan con ella.
- Proteína de anclaje:** Receptor dimérico de la PRS.
- Proteínas de estrés:** Son un tipo de chaperonas cuya síntesis aumenta en respuesta a estímulos físicos o químicos, que dañan a las proteínas celulares. Algunas de ellas se expresan constitutivamente y poseen funciones básicas en la célula normal.
- Proteína disulfuro isomerasa (PDI):** Enzima muy abundante en el RE de las células de tejidos secretores, como hígado y páncreas, que contribuye a la formación de puentes disulfuro correctos en las proteínas de la ruta biosintética-secretora.
- Proteína fluorescente verde:** Proteína que presenta propiedades ópticas, caracterizadas por la emisión de fluorescencia intrínseca de color verde, con un rendimiento cuántico elevado, muy utilizada en estudios de localización subcelular por microscopía de fluorescencia o confocal.
- Proteína extrínseca de membrana:** Proteína que sólo mantiene una ligazón superficial con algún componente intrínseco de la membrana. Se separa de la misma por tratamientos suaves.
- Proteína intrínseca de membrana:** Proteína de naturaleza globular que se encuentra totalmente imbricada en la bicapa lipídica.
- Proteína presa:** Proteína seleccionada mediante interacción con el cebo, en la técnica del doble híbrido de levadura.
- Proteínas de fase aguda:** También, denominadas proteínas de choque térmico o proteínas de estrés. Son proteínas cuya síntesis aumenta considerablemente durante los procesos febriles, inflamatorios, infecciosos, virales o situaciones de estrés celular. Se han descrito más de una treintena.
- Proteínas G:** Proteínas que unen GTP y GDP y que participan en procesos de transducción de señales.
- Proteína fosfatasa:** Hidrolasa que cataliza la desfosforilación de una proteína.
- Proteinograma:** Resultado o representación gráfica de la separación por métodos electroforéticos de las proteínas plasmáticas o séricas.

Proteína quinasa: Enzima que cataliza la fosforilación de las proteínas.

Proteoglicano: Macromolécula multimérica que contiene una parte glucídica, mayoritaria de glicosaminoglicanos y una parte peptídica, minoritaria, formada por proteínas.

Proteoma: Conjunto formado por todas las proteínas que se expresan en una célula o tejido, bajo unas determinadas condiciones nutricionales o ambientales.

Proteómica: Disciplina que se encarga del estudio de los proteomas.

Protooncogenes: Genes presentes en las células normales que pueden, si se alteran, convertirse en oncogenes y transformar las células en cancerosas.

Pseudogén: Copia de un gen que aparece en alguna posición del genoma que no corresponde a la del gen normal funcional, y que no puede ser expresada debido a modificaciones en las secuencias de ADN reguladoras, en las codificantes, o en ambas.

Provirus: Genoma vírico integrado en el ADN de la célula hospedadora.

Punto final (métodos de): Métodos de análisis enzimático de metabolitos en los que se añade al líquido a analizar una enzima que reconozca al metabolito de interés, y la reacción se deja transcurrir hasta consumir totalmente el sustrato. Posteriormente, se mide alguna propiedad química o física del sustrato o el producto, cuyo cambio sea proporcional a la cantidad del compuesto presente en la muestra.

Punto isoeléctrico: Valor de pH en el que moléculas polielectrolíticas, como los aminoácidos o las proteínas, presentan una carga neta nula.

p53: Gen o proteína oncosupresora implicada, entre otras acciones, en la inducción de los mecanismos de reparación del ADN o de la apoptosis.

Q

Quilomicrón: Lipoproteína sérica de tamaño grande y muy baja densidad, ensamblada en los enterocitos y encargada del transporte y la distribución de las grasas de la dieta.

Quimioquinas: Proteínas inducibles de baja masa molecular, que participan en los procesos inflamatorios e inmunitarios a través de su capacidad de inducir la quimiotaxis de algunos tipos de leucocitos.

Quinasa: Enzima que transfiere un grupo fosfato desde un donador activado, normalmente un nucleósido trifosfato, hasta un acceptor. Cuando el acceptor es una proteína, se habla de proteína quinasas y la reacción de fosforilación se produce sobre residuos hidroxilados de serina, treonina o tirosina.

Quiralidad: En química orgánica, carbono que tiene unidos 4 sustituyentes distintos y crea un centro de actividad óptica. Es sinónimo de asimetría.

R

Rab: Familia de proteínas monoméricas con actividad GTPasa, implicada en la fusión de vesículas.

Radical libre: Especie química muy reactiva que contiene uno o más electrones desapareados en su orbital externo.

Raf: Proteína quinasa que participa en la ruta de activación de las MAPK.

Ras: Proteína G que participa en diferentes rutas de señalización celular.

Reacción en cadena de la polimerasa: Véase PCR.

Reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa

(RT-PCR): Amplificación de ARN mediante PCR, tras copiarlo como ADNc por medio de transcripción inversa.

Rb: Proteína o gen de retinoblastoma. Proteína que participa en el control del ciclo celular.

Receptor: Proteína encargada del reconocimiento específico de una molécula de señalización o mensajero químico, y de la transmisión de la señal recibida.

Receptor de membrana: Proteína receptora asociada a una membrana biológica, normalmente, la membrana plasmática.

Receptor hormonal: Proteína receptora cuyo ligando es una hormona, encargada de transmitir a la célula diana la señal hormonal, en forma de cambios en su estado metabólico o en su expresión génica.

Receptor huérfano: Proteína receptora cuyo ligando específico no ha sido identificado.

Receptor ionotrópico: Receptor cuya activación en respuesta a la unión del ligando, normalmente un neurotransmisor, produce un cambio transitorio en la permeabilidad de la membrana para un determinado ion, con el consiguiente cambio de potencial.

Receptor metabotrópico: Receptor cuya activación tras la unión del ligando específico, normalmente un neurotransmisor, determina un cambio en el estado metabólico de la célula debido a la producción de un segundo mensajero, la activación de proteína quinasas, y la fosforilación de proteínas intracelulares.

Receptor nuclear: Receptor de moléculas de señalización liposolubles, como las hormonas esteroideas o tiroideas, localizado en el interior de la célula, con actividad como factor de transcripción regulado por la unión del ligando.

Receptor serpentina: Receptor de membrana con una estructura característica con siete fragmentos transmembrana, el extremo N-terminal extracelular y el C-terminal citosólico, que actúa normalmente como receptor metabotrópico mediante la estimulación de proteínas heterotriméricas de la familia de las proteínas G. También, denominados receptores acoplados a proteínas G.

Recombinación: Intercambio de uno o varios fragmentos de ADN entre dos moléculas distintas, de manera que las resultantes poseen secuencias de las dos originales. La recombinación génica se produce de forma natural en varias situaciones, como es la generación de las células sexuales.

Recombinación somática: Proceso de recombinación que experimentan los segmentos génicos de los genes de las inmunoglobulinas durante el desarrollo de linfocitos.

Recorrido cromosómico: Secuenciación de fragmentos de ADN clonado en una dirección a lo largo del cromosoma.

Región codificante: Segmento de ADN o de ARN que contiene una serie de codones que pueden ser traducidos a polipéptido.

Región de control del locus: Secuencia lejana de ADN que controla la expresión de una familia de genes.

Región señal: Conjunto de aminoácidos, generalmente alejados en la estructura primaria, pero que quedan cerca en la estructura terciaria, que determina la localización final de algunas proteínas dentro de la célula, al dirigirlas hacia un órgánulo específico.

Regulón: Conjunto de genes no adyacentes que se regulan por un mecanismo común.

Remodelado de la cromatina: Proceso de cambio de la estructura de la cromatina mediado por la interacción con proteínas reguladoras o con enzimas específicas (acetilasas y desacetilasas de histonas).

Reparación de apareamientos incorrectos: Sistema que corrige los apareamientos entre las cuatro bases del ADN, distintos a los ortodoxos de Watson y Crick.

Reparación por escisión: Mecanismo que permite la eliminación de un segmento de ADN monocatenario, dañado de un dúplex de ADN y su reemplazo por una secuencia reparada que se copia de la cadena de ADN no alterada.

Repeticiones en tandem de número variable (RTNV o VNTR): Véase Minisatélites.

Repeticiones terminales largas (RTL o LTR): Secuencias bicatenarias de ADN, generalmente de varios centenares de pares de bases de longitud, que están repetidas en los dos extremos del ADN de los retrovirus y de los retrotransposones.

Replicación de ADN: Síntesis de dos nuevas dobles hélices de ADN, a partir de una doble hélice. Cada hebra de la doble hélice original actúa de molde para la síntesis de una hebra complementaria.

Replicación discontinua: Se refiere a la síntesis del ADN en cortos fragmentos (fragmentos de Okazaki), que finalmente se unen para formar una cadena completa de ADN.

Replicación semiconservativa: Generación de un dúplex de ADN que contiene una cadena original y una cadena de ADN neosintetizada.

Replicón: Conjunto formado por un origen de replicación y todo el ADN que se replica a partir de ese origen.

Replisoma: Conjunto de proteínas que participan en la replicación de un replicón.

Repressor: Proteína que inhibe la transcripción de un gen, uniéndose a una secuencia específica de nucleótidos en el ADN (p ej., a un operador o a un silenciador).

Restrictasa: Véase Endonucleasa de restricción.

Retículo endoplásmico: Sistema de cisternas y vesículas intracelulares presente en las células eucarióticas, en el que tiene lugar la síntesis de algunas biomoléculas y, sobre todo de las proteínas de la vía biosintética-secretora. Se clasifica en retículo endoplásmico liso, desprovisto de ribosomas, y retículo endoplásmico rugoso, en el que los ribosomas asociados a la membrana participan activamente en la síntesis proteica.

Retina: Capa interna del globo ocular, donde están ubicadas las células fotorreceptoras (conos y bastones) con propiedades neuronales.

Retinoblastoma: Tumor de la retina.

Retroalimentación: En enzimología, mecanismo de regulación por el que el producto de una vía en la que intervienen varias enzimas modula la actividad de una de las enzimas iniciales de la vía, normalmente, inhibiéndola.

Retrotransposición: Elemento móvil de ADN cuyo movimiento en el genoma depende de su transcripción y posterior transcripción inversa del ARN resultante.

Retrovirus: Virus con genoma de ARN, que se reproduce copiando primero su ARN a ADN por transcripción inversa.

Ribocomutador: Secuencia de ARN que puede adoptar estructuras alternativas mediante su interacción con efectores, lo que puede producir un cambio en su función.

Ribonucleasas: Véase ARNasas.

Ribosomas: Orgánulos subcelulares que ensamblan los aminoácidos para formar polipéptidos, utilizando el ARNm como molde. Están en el citoplasma y están compuestos por ARN y proteínas.

Ribozima (ARN catalítico): Molécula de ARN dotada de actividad enzimática.

RISC: Complejo silenciador inducido por ARN, que participa en la degradación de ARNm asociado a secuencias antisentido.

ROS: Véase Especies reactivas oxigenadas.

Ruta de las pentosas fosforiladas: Ruta metabólica de degradación oxidativa de la glucosa que proporciona poder reductor para reacciones biosintéticas en forma de NADPH, así como ribosa-fosfato para la síntesis de nucleótidos y ácidos nucleicos. También, llamada ruta del fosfogluconato.

S

Sacarosa: Azúcar presente en muchos frutos y productos vegetales, como remolacha y caña de azúcar, utilizado como azúcar de mesa. Disacárido formado por una unidad de glucosa y otra de fructosa, unidas por un enlace glicosídico $\alpha(1 \rightarrow \beta 2)$ en dirección glucosa-fructosa.

Sarcoma: Tumor maligno derivado de células del tejido conjuntivo.

Secreción constitutiva: Proceso de secreción de proteínas, continuo y no regulado que ocurre en todas las células eucarióticas.

Secreción regulada: Proceso de secreción de proteínas, específico de algunas células, que sólo se produce cuando éstas reciben determinadas señales.

Secuencia: Forma en que se suceden o encadenan los nucleótidos a lo largo de las cadenas de ADN o ARN (o los aminoácidos en las cadenas proteínicas).

Secuencia consenso: Secuencia idealizada de ADN o de aminoácidos en la que cada posición representa la base o el aminoácido más frecuente en las secuencias reales conocidas.

Secuencia de Kozak: Secuencia previa al codón de iniciación del ARNm eucariótico que participa en el proceso de iniciación de la traducción.

Secuencia de Shine-Dalgarno: Secuencia localizada en la región líder del ARNm procariota que interacciona con el ARNr 16S en el inicio de la traducción.

Secuencia intercalada: Véase Intrón.

Secuencia palindrómica: Secuencia de ADN con simetría rotacional binaria alrededor de un eje, que puede dar lugar a estructuras de horquilla, debido a la complementariedad de las bases respecto al eje de simetría. A menudo, son reconocidas por enzimas de restricción.

Secuencia señal: Secuencia de aminoácidos que orienta una proteína hacia un sitio celular específico.

Secuencia topogénica: Secuencia presente en proteínas de la ruta biosintética-secretora que determina la inserción y la fijación de la proteína en la membrana. A diferencia del péptido señal, son secuencias internas.

Secuencia -DXE-: Secuencia señal de exportación de proteínas transmembrana desde el RE al Golgi.

Secuencia -KDEL-: Secuencia señal de permanencia de proteínas solubles en el RE.

Secuencia -KKXX-: Secuencia señal de permanencia de proteínas transmembrana en el RE.

Secuencia -NXS/T-: Secuencia señal de *N*-glicosilación de glicoproteínas de la ruta biosintética-secretora.

Secuencias PEST: Secuencias ricas en prolina (P), glutamato (E), serina (S) y treonina (T), presentes en proteínas celulares de rápido recambio.

Secuencias repetidas directas: Secuencias de ADN idénticas repetidas en el mismo sentido.

Secuencias repetidas invertidas (palíndromes): Secuencias idénticas leídas en sentidos opuestos.

Secuencial (modelo): Modelo para explicar el comportamiento de las proteínas alostéricas, propuesto por Koshland, Nemethy y Filmer en 1966.

Secuón: Secuencia corta de aminoácidos en las proteínas que especifican una modificación postraduccional determinada.

Sec 61/62/63: Familia de proteínas oligoméricas transmembrana que forman parte del translocón del RE de las células de mamífero.

Segundo mensajero: Molécula de señalización formada en el interior de la célula en respuesta a una señal extracelular.

Senescencia: Proceso por el cual las células somáticas normales pierden su capacidad de proliferación, después de un número determinado de divisiones.

Silenciador: Véase elemento silenciador.

Silenciamiento de ARN: Inhibición o degradación de un ARNm, inducida por un ARN de secuencia complementaria.

Simporte: Transporte acoplado de sustancias diferentes, a través de membrana en la misma dirección.

SINE: Secuencias repetitivas de pequeño tamaño dispersas por el genoma.

SNARE: Familia de receptores transmembrana específicos de orgánulo, implicados en el reconocimiento de vesículas de transporte.

Sonda: Fragmento de ADN o de ARN marcado radiactivamente (o con algún grupo químico detectable fácilmente), utilizado para detectar secuencias de ácidos nucleicos complementarios mediante hibridación.

Southern blot: Véase Transferencia de Southern.

Splicing: Véase Corte y empalme.

Superenrollamiento (del ADN): Nivel de enrollamiento superior de la doble hélice de ADN sobre su propio eje longitudinal.

Superfamilia de las inmunoglobulinas: Familia de proteínas que presentan, al menos, un dominio del tipo de los de las inmunoglobulinas. A ella pertenecen moléculas de reconocimiento antigénico e interacciones celulares en el sistema inmunitario y otros sistemas biológicos.

T

Tautómeros: Isómeros estructurales que se diferencian en la localización de los hidrógenos y los dobles enlaces.

Telomerasa: Enzima con actividad transcriptasa inversa, encargada de la replicación de los telómeros.

Telómero: Extremo de un cromosoma. Cada cromosoma tiene dos telómeros.

Temperatura de fusión (Tm): Temperatura media mínima compatible con el apareamiento estable de dos hebras complementarias de ácido nucleico.

Terapia génica: Estrategia terapéutica que consiste en la transferencia de material genético nuevo a células de un individuo para modificar el repertorio genético de las células somáticas y conseguir un beneficio funcional.

Tetrahidrofolato: Coenzima activa estructuralmente derivada de la vitamina ácido fólico.

Tetraploidía: Dotación cromosómica equivalente a cuatro dotaciones haploides.

Tiamina: Vitamina hidrosoluble que participa en la formación de la coenzima pirofosfato de tiamina.

TOF: Véase MALDI-TOF.

Topoisomerasas: Enzimas que regulan el superenrollamiento del ADN.

Totipotencia: Capacidad de los oocitos fecundados y de las células resultantes de sus primeras divisiones de dar lugar a todos los tipos celulares especializados y diferenciados presentes en el organismo adulto.

Traducción: Proceso por el cual el código genético (los codones) de un ARN mensajero es «descodificado» para generar la proteína correspondiente.

Trans: Término utilizado para indicar que dos secuencias de ácido nucleico relacionadas funcionalmente se encuentran a cierta distancia una de otra. Lo opuesto a *cis*.

Transaminación: Transferencia de un grupo amino desde un aminoácido a un cetoácido.

Transaminasas: Véase Aminotransferasas.

Transcripción: Proceso por el cual un modelo de ADN se copia en ARN por la acción de la enzima ARN polimerasa.

Transcriptasa inversa: Enzima que copia una secuencia de nucleótidos de ARN a una de ADN.

Transcriptoma: Conjunto de moléculas de ARN diferentes presentes en una célula bajo unas condiciones determinadas.

Transducción: Transferencia de material genético entre bacterias, mediante la participación de un fago, sin que éstas entren en contacto.

Transfección: Proceso por el que un gen o un fragmento de ADN obtenido *in vitro* es transferido o introducido en una célula.

Transferencia Northern (Northern blot): Técnica que transfiere las moléculas de ARN, previamente separadas mediante electroforesis en geles de agarosa, a un soporte de membrana para posteriormente hibridarla con sondas específicas.

Transferencia nuclear: Trasplante de un núcleo desde una célula diploide diferenciada, sometida a ciertos tratamientos, hasta un oocito enucleado que puede ser implantado posteriormente en el sistema reproductor de una madre adoptiva, para generar un individuo con la misma dotación genética que la célula donadora del núcleo.

Transferencia de Southern (Southern blot): Técnica que transfiere moléculas de ADN, después de su separación por tamaño en gel de agarosa, a membranas para poderlas hibridar con sondas específicas.

Transferencia Western (Western blot): Técnica que transfiere las proteínas separadas mediante PAGE a una membrana para poderla hibridar con anticuerpos específicos.

Transformación: Conjunto de cambios que una célula sufre cuando se convierte en cancerosa. También se aplica a las bacterias cuando incorporan un gen exógeno.

Transgén: Gen que se introduce en una célula o en un individuo de forma artificial.

Transgénico: Organismo modificado genéticamente, mediante la introducción de un transgén.

Transición: Sustitución de nucleótidos purínicos por purínicos o pirimidínicos por pirimidínicos en el ADN.

Translocación: Cambio en la ubicación de un determinado fragmento de material genético.

Translocación de proteínas: Proceso por el cual una proteína sintetizada en el citosol es transportada hasta algunos orgánulos de destino, como las mitocondrias y los peroxisomas.

Translocón: Complejo multiproteico asociado a la membrana del RE, que guía la translocación de proteínas de la ruta biosintética-secretora. Está formado por varias proteínas que se disponen formando un poro que atraviesa la membrana del RE.

Transportador: Componente de membrana, habitualmente de carácter proteico, que permite que los compuestos por los que son afines, que por sí solos no pueden atravesar las membranas, lo consigan.

Transporte mediado: Es el transporte de compuestos a través de membranas biológicas, hecho posible por la existencia de transportadores. Según se realice a favor o en contra del gradiente de concentración de los compuestos, dicho transporte es activo o pasivo. Según que la dependencia del activo de la energía metabólica sea o no directa, dicho transporte activo es primario o secundario.

Transporte vesicular: Mecanismo de transporte intracelular que regula gran parte de la ruta biosintética-secretora, en el que vesículas especializadas cargan las proteínas en un orgánulo de la ruta y las descargan en otro.

Transposición: Véase Elementos móviles.

Transversión: Sustitución de nucleótidos purínicos por pirimidícos, o viceversa, en el ADN.

Triacilglicerol: Éster formado por el glicerol y tres ácidos grasos esterificando los tres grupos hidroxilos. También, llamado triacilglicérido o TAG.

Tripsina: Endoproteasa de origen pancreático que participa en la digestión de las proteínas a nivel intestinal.

Trombina: Proteasa que participa en la transformación del fibrinógeno a fibrina durante el proceso de coagulación de la sangre.

U

Ubiquinona: También, denominada coenzima Q. Compuesto terpenoide liposoluble que funciona como trasportador móvil en la cadena de transporte electrónico de las mitocondrias, gracias a su estructura quinónica reversiblemente reducible.

Ubiquitina: Pequeña proteína presente en todas las células eucarióticas que se une a grupos amino de residuos de lisina de otras proteínas, en forma monomérica (monoubiquitinación) o en cadenas (poliubiquitinación), y constituye una señal para la degradación de la proteína modificada por el proteasoma.

Ubiquitinación: Unión covalente de la ubiquitina a una proteína.

Unidad de transcripción: Todos aquellos segmentos de ADN asociados con un gen y que son transcritos, es decir, las regiones codificantes, los intrones y algunas otras secuencias de ADN ubicadas en 5' o 3' de la región codificante.

Ureotélico: Organismo que elimina el exceso de amonio procedente de la degradación de los aminoácidos en forma de urea.

Uricotélico: Organismo que elimina el exceso de amonio procedente de la degradación de los aminoácidos en forma de ácido úrico.

3'UTR: Secuencia no traducida del extremo 3' del ARNm.

5'UTR: Secuencia no traducida del extremo 5' del ARNm.

V

Vector: Molécula de ADN que puede unirse a un segmento de ADN de distinto origen y que puede ser introducida después en una célula en la que es capaz de replicarse.

Vector de expresión: Vector de ADN recombinante diseñado para permitir la transcripción y la traducción de secuencias codificantes contenidas en segmentos de ADN insertados.

Vector lanzadera: Vector de ADN recombinante que puede replicarse en las células de más de una especie.

Vector suicida: Vector de ADN recombinante diseñado para que no pueda replicarse, siendo capaz de integrar una parte de su material genético en el ADN genómico, generalmente, por recombinación homóloga.

VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana, causante del SIDA.

Virus: Partícula infecciosa formada por ácido nucleico y proteínas, que se multiplica utilizando la maquinaria enzimática de una célula.

Vitámeros: Diferentes formas alternativas de una vitamina.

Vitamina: Micronutriente exógeno necesario para la síntesis de las coenzimas u otros procesos biológicos. Carece de valor energético propio, pero es indispensable para el desarrollo y buen funcionamiento del organismo.

W

Western blot: Véase Transferencia Western.

X

Xenobiótico: Molécula orgánica que no es producida por el organismo en el que se halla, a menudo, con actividad terapéutica.

Z

Zimógeno: Véase Proenzima.

ALGUNAS TÉCNICAS INSTRUMENTALES EN BIOLOGÍA MOLECULAR Y PROTEÓMICA

PROPOSITO

En cualquier muestra biológica, a nivel tisular, celular o incluso subcelular, la cantidad y composición de la mezcla de biomoléculas distintas suele ser muy compleja. En consonancia, el número y la diversidad de las técnicas fisicoquímicas necesarias para el estudio, el aislamiento, la caracterización y la determinación de las biomoléculas son muy elevados. Por otra parte, algunas técnicas relacionadas con los determinados tipos de biomoléculas como, por ejemplo, ácidos nucleicos (técnicas de *Southern* y *Northern blot*, autorradiografía o la reacción en cadena de la polimerasa), ya han sido tratadas en algunos capítulos de este libro.

Por ello, este anexo se limitará a reseñar las principales técnicas relacionadas con el estudio de las proteínas, aunque muchas de ellas son comunes al estudio de otras biomoléculas. Por ejemplo, una cromatografía permite separar no sólo proteínas sino hidratos de carbono, lípidos, metabolitos o cualquier tipo de biomoléculas, pero las condiciones de la cromatografía deben adecuarse a las propiedades de las moléculas a separar.

Sin embargo, la separación, la purificación y el estudio de las proteínas constituye una de las necesidades más frecuentes en Bioquímica y Biología molecular, con fines clínicos, biotecnológicos o de investigación. Las técnicas desarrolladas con objeto de aislar y purificar las proteínas son diversas y se basan en las diferencias de carga, tamaño y especificidad de unión a otras biomoléculas. Las principales técnicas de purificación son la *cromatografía*, la *electroforesis* y la *ultracentrifugación*. En cuanto al estudio y caracterización de su estructura se requieren técnicas fisicoquímicas poderosas, como son la *cristalográfia de rayos X*, la *resonancia magnética nuclear* o la *espectrometría de masas*.

A continuación, se comentarán brevemente las bases y características de todas estas técnicas, relacionándolas con un segundo nivel, el de la proteómica, basada en la espectrometría de masas, actualmente con un gran desarrollo, ya que resulta ser el procedimiento más adecuado para la identificación y caracterización de cualquier proteína de una mezcla biológica, tras el fraccionamiento previo de dicha mezcla.

LA PROTEÓMICA

El término *PROTEOMA* parece que fue acuñado en 1994 por el científico australiano M. R. Wilkins para denominar al conjunto de *PROTEÍnas* que se forman a partir de un gen*OMA* determinado en una situación también determinada. Ahí nació la *PROTEÓMICA*,

que se puede definir como *el estudio a gran escala de los productos génicos mediante métodos bioquímicos, para obtener una visión global e integrada de los procesos celulares*.

El proteoma es dinámico y no basta con conocer el genoma, ni siquiera con conocer la población de ARNm de una muestra biológica, puesto que además de la regulación traduccional, las proteínas sufren numerosos procesos que suponen un cambio constante, como modificaciones postraduccionales, proteólisis etcétera. Así lo que se obtiene de un estudio proteómico determinado es como una fotografía del contenido proteico.

Se suelen distinguir tres tipos de aproximaciones proteómicas, según sus objetivos:

— *De expresión*, para conocer la expresión de las proteínas comparando muestras similares obtenidas en diferentes condiciones con el fin de detectar nuevas proteínas aparecidas como consecuencia de alguna enfermedad o cualquier otra señal.

— *De mapa celular o estructura*, para determinar en el orgánulo purificado adecuado la localización subcelular de las proteínas y las posibles interacciones entre ellas.

— *Funcional*, para caracterizar el mecanismo de acción de agentes o ligandos en función de los cambios proteicos que producen.

Una aproximación proteómica clásica consta de un fraccionamiento directo por electroforesis y cromatografía (ambas, al menos, bidimensionales), un tratamiento proteolítico previo de la muestra mediante digestión tríptica, y un análisis de espectrometría de masas posterior.

CROMATOGRAFÍA

Consiste en la separación de una mezcla de proteínas en disolución por la distinta interacción que presenta cada una de ellas al atravesar la disolución (denominada fase móvil) una columna rellena de un soporte sólido (fase estacionaria). El paso a través de la columna se llama elución cromatográfica, y puede realizarse a presión normal (*cromatografía convencional*), o a alta presión (*cromatografía de alta eficacia o HPLC*), que utiliza equipos más costosos, pero da mejores resultados. En cualquier caso, es muy difícil que una proteína pueda ser purificada totalmente con una sola cromatografía y, en general, el proceso de purificación consta de varias etapas que van enriqueciendo paulatinamente la preparación en la proteína objeto de purificación.

Las características de la fase estacionaria varían de acuerdo con el objetivo perseguido y definen el tipo de cromatografía. Los principales son:

- **Filtración en gel:** La fase estacionaria tiene un tamaño de poro controlado, de forma que las proteínas se separan formado como base su tamaño molecular por un proceso de filtración molecular. Eluyen primero las más grandes, y se retrasan las más pequeñas.
- **Intercambio iónico:** La fase estacionaria tiene unidos grupos cargados, bien positivos o bien, negativos. Por ello, son capaces de retener proteínas que tengan carga de signo opuesto, mientras repelen las del mismo signo, que son rápidamente eluidas de la columna. Posteriormente, cambios en las condiciones iónicas de la fase móvil hacen que las proteínas retenidas se desplacen y eluyan de la columna. Estos cambios suelen realizarse mediante la aplicación de la fase móvil con un gradiente de concentración salina o de pH.
- **Afinidad:** Quizá la más potente por su especificidad, la fase estacionaria tiene unidos grupos que son reconocidos específicamente por la proteína que se pretende purificar. Lo más utilizado es el reconocimiento de las proteínas con anticuerpos específicos unidos a la fase estacionaria o con lectinas para la unión de glicoproteínas. Cuando eluye la fase móvil, la proteína que interacciona específicamente con su anticuerpo es la única que quedará retenida, separándose del resto de los componentes de la mezcla. Posteriormente se cambia la fase móvil para que se liberen las proteínas retenidas.
- **Hidrofóbica:** La fase estacionaria tiene propiedades hidrofóbicas y, por tanto, retiene a las proteínas más afines, como las de membrana, mientras eluyen las hidrofílicas. Al igual que el intercambio iónico, cuando se cambia la fase estacionaria para disminuir las interacciones hidrofóbicas, se produce la liberación de las proteínas retenidas. La cromatografía hidrofóbica realizada a alta presión y con fases estacionarias de condiciones mecánicas y tamaño de partícula muy especiales, se denomina también *cromatografía en fase inversa* y es idónea para la separación de proteínas o péptidos previos a su caracterización por espectrometría de masas (véase más adelante).

En los casos de aplicación al análisis proteómico, se suele realizar una cromatografía (bidimensional) o multidimensional. La bidimensional suele consistir en una primera cromatografía de intercambio iónico seguida de una segunda hidrofóbica en fase inversa. En el caso de las multidimensionales, el fraccionamiento será mejor, pero también aumentan las pérdidas y la complejidad del proceso y pueden consistir, por ejemplo, en varios tipos de cromatografía en HPLC con equipos que permitan controlar el flujo, la presión o la composición de la fase móvil.

Las principales ventajas de la cromatografía radican en que puede detectar proteínas ácidas, básicas, grandes, pequeñas, lipoproteínas, etcétera. En algunos casos es más sensible que la 2D-PAGE, que se comentará posteriormente, y entre sus inconvenientes se encuentran su menor resolución en el caso de las proteínas ínte-

gras y el hecho de que durante la cromatografía pueden perderse isoformas de las proteínas.

Aunque se puede intentar la separación directa de proteínas íntegras, suele ser más eficaz realizar una digestión tríptica previa con el fin de fraccionar la mezcla de péptidos. Esto permite realizar la conexión en continuo del elido del cromatógrafo con el espectrómetro, siendo este diseño apropiado para análisis como los conocidos como *etiqueta de secuencia* (*peptide tagging*, PT), con equipos ESI-IT-MS/MS (ionización por electrospray, ESI, detección por trampa de iones (IT) y análisis masas/masas (MS/MS).

Electroforesis

Se basa en la exposición de mezclas proteicas a un campo eléctrico, en un soporte semisólido y poroso. Cada proteína emigra al polo de carga opuesta, con una movilidad que depende de la relación entre su carga y su masa. El medio más utilizado es el gel de poliacrilamida, controlable en cuanto a condiciones de poros y pH, que posee la consistencia adecuada para que una vez realizada la separación, se puedan revelar las proteínas, identificarlas, cuantificarlas y transferirlas a un segundo soporte, generalmente papel (en la técnica denominada Western).

La electroforesis se puede utilizar como técnica de estudio de cualquier molécula cargada, y de hecho es también muy utilizada en el campo de los ácidos nucleicos. En este caso el gel soporte más utilizado suele ser agarosa, sobre todo para cadenas grandes, aunque la poliacrilamida es también de gran utilidad si los fragmentos son pequeños, como por ejemplo ocurre cuando se trata de secuenciar ADN. Las cubetas de agarosa y el sentido de la electroforesis suele ser horizontal, mientras que los geles de poliacrilamida suelen montarse en vertical. Asimismo, como complemento a las técnicas más sofisticadas relacionadas con la cuantificación de los ácidos nucleicos, como la RT-PCR, se utilizan algunas versiones sofisticadas de electroforesis, como la *electroforesis capilar*.

SDS-PAGE. Volviendo a las proteínas, los geles de poliacrilamida como método rutinario de separar y purificar proteínas o, también, como criterio de pureza y para determinar la masa molecular de estas moléculas, fueron introducidos por Laemmli hace más de 30 años. Laemmli también estandarizó las condiciones para separar de forma sistemática proteínas según su tamaño por SDS-PAGE monodimensional (1-D). El rango de separación es aprox. de 1 hasta 300 kDa. En esta técnica, las proteínas se desnaturizan por el calor y se tratan con agentes disociantes. El SDS ayuda a esta desnaturización, al tiempo que las solubiliza en micelas y les confiere a todas carga negativa para que emigren al ánodo, independientemente de su punto isoeléctrico (pI). La desagregación de la estructura cuaternaria en subunidades se completa con la presencia de β-mercaptoetanol, que rompe puentes disulfuro y asegura la obtención de monómeros, para su migración en orden inverso a su masa molecular.

2D-PAGE. Los abordajes proteómicos ambiciosos necesitan tipos de electroforesis más sofisticadas y de mayor poder de resolución. Entre ellas destaca la electroforesis bidimensional 2D-PAGE, consistente en dos electroforesis consecutivas. En la 2D-PAGE, la primera electroforesis que se realiza es en realidad un isoelectrofoque, en el que las proteínas sin disociar ni tratadas con detergente se separan según su pI, mediante la aplicación de la muestra en unas

tiras que tienen un gradiente de pH inmovilizado (IPG, inmovilinas). Al aplicar el campo eléctrico, las proteínas migran y se distribuyen de acuerdo con su pI, hasta alcanzar la zona de pH igual a ese parámetro, puesto que ahí pierden su carga neta y ya no se mueven durante el resto del isoelectroenfoque.

Esa tira con las proteínas distribuidas según su pI es el punto de partida para la segunda electroforesis, que consiste en la separación, basada en el tamaño, sobre un gel, según las condiciones de Laemmli. El campo eléctrico se aplica en dirección perpendicular al sentido de la migración de la tira de isoelectroenfoque, y las proteínas avanzan de forma inversa a su tamaño.

Inicialmente, las tinciones de los geles finales se realizaban con azul Coomassie, pero se han desarrollado otras alternativas más sensibles para visualizar proteínas minoritarias, como el nitrato de plata o colorantes fluorescentes, tipo Sypro-Ruby, Cy3, Cy5, entre otros, que permiten una mayor sensibilidad y, sobre todo, compatibilidad con la posterior digestión tríptica de la proteína, necesaria para seguir el proceso de identificación por MS. Además, esos colorantes son de más fácil eliminación que el azul Coomassie y muestran poca interferencia en la MS, aunque queden residuos en la muestra aplicada al espectrómetro.

Las ventajas de la electroforesis 2D-PAGE son varias: se puede usar en muestras crudas, tiene gran capacidad de separación (se ha logrado separar unas 5000 proteínas en un sólo gel 2D), y discrimina isoformas de las proteínas debidas a las transformaciones postraducionales, como glicosilación, fosforilación y acetilación (Fig. A IV-1).

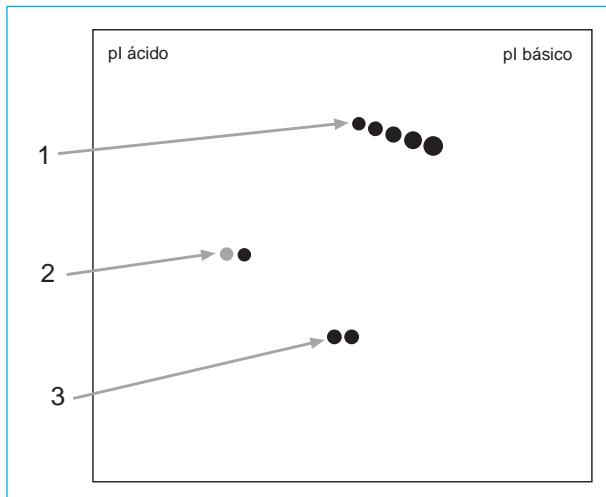


Figura anexo IV-1. Cambios en la migración proteica en SDS-PAGE 2D por modificaciones postraducionales: 1- La N-glicosilación suele dar una serie de manchas que tienden a pI más bajos y masas mayores por la presencia heterogénea de restos sílicos, ácidos y con un tamaño apreciable. 2- La fosforilación suele dar una mancha de menor pI, pero no afecta la masa por la pequeña contribución de estos grupos. También suele ser más débil, porque sólo una pequeña parte de la proteína está normalmente fosforilada. 3- La acetilación también afecta sólo al pI, que es inicialmente básico y tiende a bajar, por la conversión de grupos amino terminales catiónicos a grupos acetilados neutros.

Obviamente, este método es discontinuo porque conlleva la localización de las proteínas de interés en el gel y su extracción. Un inconveniente radica en la forma artesanal de obtener las proteínas purificadas, puesto que hay que recortar el punto del gel donde se sitúa la mancha de la proteína que se pretende estudiar y eluir esa proteína del gel para continuar el proceso. El método manual puede sustituirse por medios semiautomáticos (robots de coste elevado). La separación 2D tiene poca reproducibilidad para la localización exacta de cada proteína en distintas electroforesis, y las tinciones tampoco permiten una determinación cuantitativa exacta. Además, por diferentes causas, el método no es válido para proteínas muy grandes o muy pequeñas, muy ácidas o muy básicas, o muy hidrofóbicas (de membrana).

El procedimiento, para ser usado en proteómica, se adapta mejor a la técnica llamada de *huella peptídica dactilar* (*Peptide Mass Fingerprint*, PMF), al uso de espectrómetros con ionización MALDI y a la caracterización de los péptidos por el *tiempo de vuelo* (TOF, del inglés *time of flight*).

Ultracentrifugación

En esta técnica se expone durante tiempos largos la mezcla de proteínas a campos gravitatorios muy fuertes, superiores a 100 000 veces la gravedad, aprovechando la fuerza centrífuga de rotación. Las proteínas sedimentan a una velocidad que depende, tanto de su masa y forma, como de la densidad de la disolución donde migran. Normalmente, la mezcla de proteínas se aplica sobre la parte superior de un gradiente, generalmente de sacarosa, previamente formado en el tubo de la centrífuga, introduciéndose cada una de ellas a distintas velocidades en dicho gradiente, lo que posibilita su separación.

De nuevo es necesario mencionar que las posibilidades y variantes de la centrifugación son enormes, y esta técnica permite separar y preparar no sólo proteínas, sino tipos celulares, suborgánulos celulares, virus o tipos de ácidos nucleicos, siempre adecuando el medio de separación en cuanto a densidad, viscosidad o presión osmótica a las peculiaridades y naturaleza de las sustancias a separar.

Cristalografía de rayos X

A diferencia de las anteriores, esta técnica está enfocada al estudio de la estructura molecular espacial de las proteínas, y no a su separación. Por tanto, se utiliza en último extremo, una vez que la proteína se ha purificado por alguna de las técnicas anteriores, o una combinación de ellas y se ha cristalizado. Las distancias de enlace en las proteínas están en el rango de 10^{-8} m, y la localización de los átomos en estas moléculas sólo puede realizarse mediante radiación de longitud de onda mucho más corta, como los rayos X, cuyo rango es aproximadamente 100 veces menor (10^{-10} m). Las proteínas se exponen a un haz de rayos X, que al incidir sobre los átomos se difractan, como una dispersión, dando un patrón que se puede registrar sobre una placa radiográfica y origina un mapa de densidad electrónica. Estos mapas son procesados matemáticamente mediante programas de ordenador complejos para reconstruir la imagen proteica.

Resonancia magnética nuclear

Al igual que la anterior, es una técnica de estudio de la estructura molecular de las proteínas, que se aplica una vez que la molécula ha sido purificada. La técnica es muy poderosa, pero difícil de aplicar a moléculas complejas, como son las proteínas. No obstante, el avance técnico en la construcción de equipos cada vez con mayor poder de resolución está permitiendo aplicar la técnica a proteínas e, incluso, a tejidos y organismos enteros, lo que ha supuesto un avance espectacular en el diagnóstico médico de enfermedades y alteraciones estructurales.

La técnica se basa en que los núcleos de los átomos de número impar de protones, como el hidrógeno (el isótopo más común, el protio) o el carbono 13 tienen un *spin* que permite que dichos núcleos se comporten como pequeños imanes. Cuando se aplica un campo magnético, los núcleos se orientan con distintos *spin* o, lo que es lo mismo, con distintos estados energéticos. Si entonces se irradian las moléculas con microondas, los núcleos pasan de un estado energético a otro, y ello da lugar a lo que se conoce como *resonancia magnética nuclear* (RMN).

Para conseguir la resonancia se puede cambiar el campo magnético o la longitud de onda de las microondas, aunque es más común variar el campo. Los estados energéticos de un núcleo y, por tanto, la energía para entrar en resonancia son muy dependientes del microentorno que le rodea, por lo que hidrógenos distintos, por ejemplo, en una cadena lateral de un aminoácido proteico, resuenan a distinta intensidad de campo. Las diferencias se llaman desviaciones químicas, pero lo importante es que dan información de la situación del núcleo en resonancia y de sus núcleos vecinos, lo que posibilita la determinación de la estructura tridimensional de la proteína.

Espectrometría de masas (MS)

Esta técnica se basa en métodos de ionización suave que permiten convertir moléculas grandes, polares y no volátiles en iones en fase gaseosa para determinar su masa/carga (m/z), que se convierte en el

principal parámetro para la identificación de la molécula original. Como es difícil volatilizar iones grandes de una proteína íntegra, que tengan una buena estabilidad frente a colisiones y un tiempo de vuelo prolongado por su elevada masa, en principio, está más enfocada a péptidos, por lo que se hace una digestión previa de la proteína.

En la MS, la exactitud se mide en ppm, que es una medida de la precisión de la determinación de la masa. Se define por el error relativo de la masa: $\text{ppm} = (\Delta M / M) \cdot 10^6$. Ello significa que un error de 1 ppm afecta a la sexta cifra significativa de la masa.

Las partes esenciales de cualquier espectrómetro de masas son:

- Una interfase para la ionización suave y la vaporización de las muestras, para su introducción.
- Un analizador de masas que mida, tanto la relación masa/carga (m/z), como la carga neta y que pueda caracterizar cada especie en función de esos parámetros.
- Finalmente, el detector para cuantificar la abundancia de cada ion caracterizado por el parámetro m/z .

Principales métodos de ionización suave

1. MALDI (*Matrix Assistant Laser Desorption Ionization*): desorción ionizante por láser asistida por la matriz. Esta técnica tiene como característica fundamental que forma sólo iones monovalentes, de manera que la relación m/z de las muestras coincide con la masa. Esto simplifica el análisis de las especies obtenidas, ya que cada molécula da una sola especie. Sin embargo, hace difícil su aplicación a moléculas de masa grande, por el gran valor de m/z del ion obtenido. Se utiliza una placa metálica, donde se deposita una gota de la muestra proteica disuelta en una solución de analitos que favorecen la desorción ionizante. Tras dejar secar la gota, se irradia la superficie con rayo láser para lograr la ionización y volatilización de los cristales, que absorben luz de láser en la longitud de onda y frecuencia apropiadas y atrapan las moléculas a analizar. Para consultar un esquema del MALDI acoplado a un espectrómetro TOF, véase la Figura A IV-2.

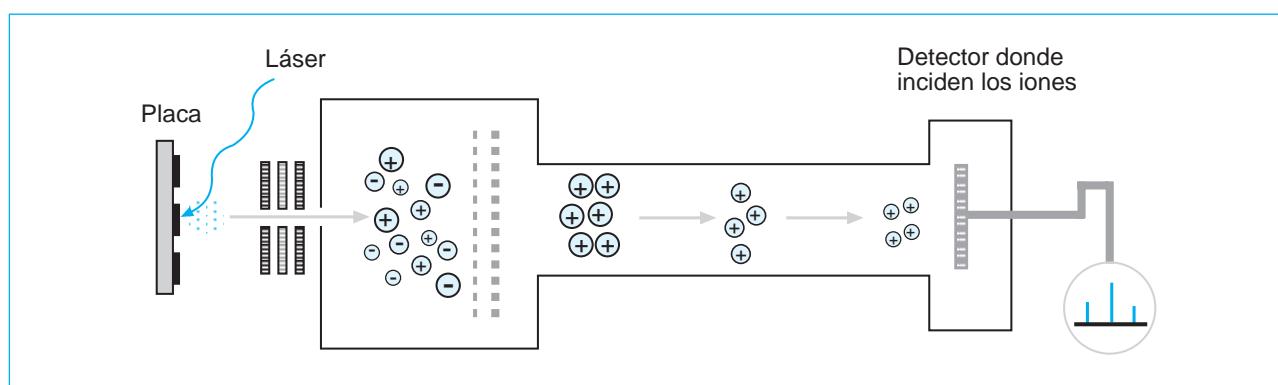


Figura anexo IV-2. Esquema de un espectrómetro MALDI-TOF: Tras la preparación de la muestra en el medio adecuado, se depositan gotas sobre la placa de MALDI y se secan. Los iones se vaporizan mediante láser que impactan en el residuo de las gotas y así penetran en un tubo de alto vacío. Su aceleración en el tubo está en relación inversa a su tamaño, por lo que los más pequeños son los primeros en llegar al detector. La masa molecular se calcula mediante calibración del tubo, siendo inversamente proporcional al tiempo de vuelo (TOF).

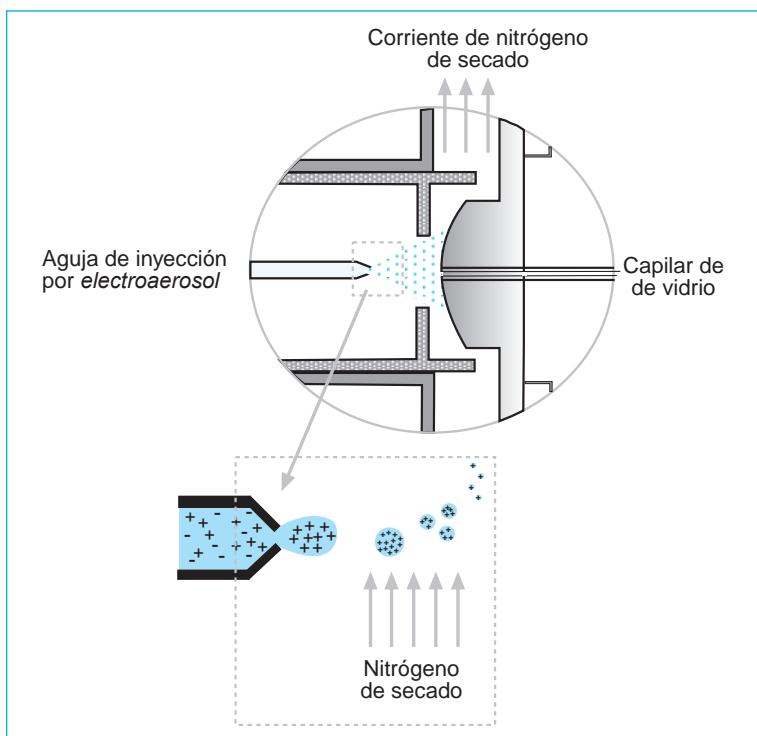


Figura anexo IV-3. Esquema de una interfase por electroaerosol (ESI): La muestra disuelta se inyecta en la cámara mediante una aguja de acero inoxidable, donde se somete a diferencial de potencial de 3-5 KeV que rápidamente decae. Las gotas cargadas de iones se someten a una corriente de gas de secado que evapora el disolvente, de modo que su diámetro decrece y estallan por la repulsión electrostática de las cargas, hasta gotas más pequeñas. Termina el proceso con iones totalmente desolvatados que entran en el capilar hacia el interior del espectrómetro.

2. ESI: Ionización por *electroaerosol*. Esta técnica parte de una muestra disuelta que se inyecta nebulizada en un arco con un potencial inicial alto que luego disminuye bruscamente. Este tratamiento hace que la muestra capte protones y forme iones de distinta carga. Alrededor del electrodo existe una diferencia de potencial alto (Fig. A IV-3), que produce la dispersión (aerosol) por el campo eléctrico. Las gotas encuentran una corriente de gas seco que produce evaporación y la rápida disminución de su diámetro. La repulsión electrostática de los iones que contiene excede la tensión superficial y hace estallar la gota, creando otras de menor diámetro. El proceso se repite hasta que los iones se liberan de las gotas y entran por un capilar de vidrio para pasar a la cámara de alto vacío. Es un método muy sensible y permite determinar entre femto/attomoles, pero la determinación de la masa es poco precisa.

Principales separadores/analizadores de iones

1. *Tiempo de vuelo (time on flight, TOF)*: El ion generado tiene un tiempo de vuelo en el tubo del espectrómetro que depende de su m/z, de modo que el recorrido es inversamente proporcional a ese parámetro. Sin embargo, el ion se pierde (salvo en los equipos TOF-TOF) y no se puede realizar MS/n para obtener mayor información.
2. *Trampa iónica (IT)*. Los espectrómetros de trampa iónica son relativamente simples de operar y mantener, tienen una gran sensibilidad y rapidez de barrido. Su principal característica es que el ion vaporizado y detectado en una cámara puede ser seleccionado en una trampa iónica y vuelto a fragmentar en otra cámara

para obtener un nuevo espectro, llamado de masas/masas (MS/MS). El proceso se puede repetir hasta n veces (MS/n). La información de los péptidos originales y los subfragmentos puede compararse con los datos depositados en los bancos públicos para su identificación correcta.

Cuando el péptido se introduce en la cámara y colisiona con el gas inerte (N o Ar), sufre la ruptura de sus enlaces peptídicos, dando dos series de iones, los *iones b*, cuya carga se mantiene sobre el extremo C-terminal ($\text{NH}_2-\text{CHR}-\text{CO}^+$) y los *iones y*, cuya carga se localiza sobre el extremo N-terminal ($\text{NH}_3^+-\text{CHR}-\text{COOH}$). Las diferencias de masa entre dos iones consecutivos de la misma serie permiten identificar al aminoácido perdido en la colisión (con dos excepciones, K/Q y L/I) y realizar la secuenciación. La Figura A IV-4 muestra un espectro de masas procedente de la fragmentación de un péptido y se puede observar la serie de fragmentos B e Y, así como su secuencia.

3. *Cuádrupolo*. Existen espectrómetros llamados de cuádrupolo, en los que la fragmentación de los péptidos se realiza por disociación inducida por colisión (CID) en lugar de por descomposición metaestable (PSD, *Post-Source Decay*) como ocurre normalmente en las trampas iónicas. Normalmente se utiliza el triple cuádrupolo, que son 3 cámaras en serie para poder realizar el MSn mediante la disociación inducida por colisión (CID) en la última cámara.

Estrategias de identificación en proteómica

- FMP (*fingerprinting mass peptide*): Identificación mediante huella peptídica. Usualmente se basa en la técnica MALDI-TOF y es

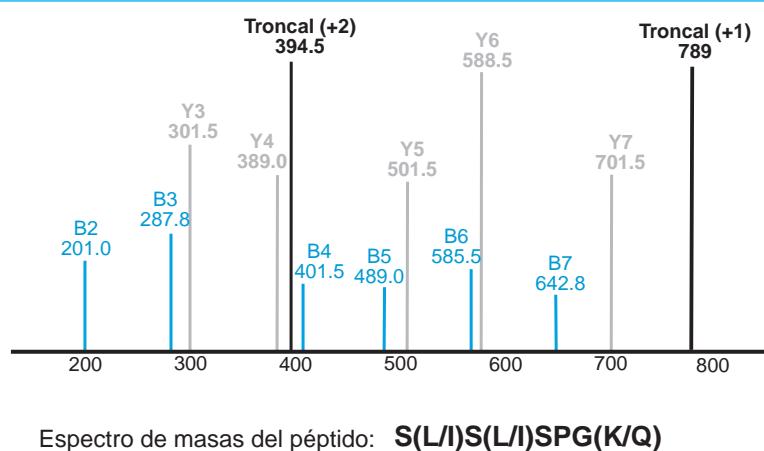


Figura anexo IV-4. Secuenciación de un péptido por fragmentación: Los iones troncales del péptido se localizan por su relación de masa/carga, y las series Y o B se identifican por las diferencias de masa, que debe corresponder a la masa del aminoácido perdido menos 18 unidades. El inicio de la serie B se localiza por la diferencia con el ion troncal de mayor tamaño, puesto que corresponde a la masa molecular del aminoácido C-terminal menos 18 unidades (H y OH) debido a su pérdida por ruptura del enlace peptídico. En este caso, la diferencia entre el troncal +1 y B7 corresponde a la K (indistinguible de la Q, puesto que ambos tienen 146 de masa). La serie Y se construye análogamente, pero a partir del extremo N-terminal. Obsérvese que no todos los representantes de la serie dan señal, lo que dificulta la interpretación del espectrograma.

un método rápido y muy eficaz, pero con limitaciones. El conjunto de fragmentos peptídicos que resultan de la proteína tras proteólisis generalmente tríptica y que se comparan con los fragmentos teóricos de proteínas en las bases de datos (NCBI; Celera), mediante varios algoritmos desarrollados a tal efecto. Tiene poco rendimiento cuando se parte de poca cantidad de proteínas o de mezclas complejas. Incluso para las proteínas mayoritarias, la ionización de los péptidos es selectiva y no es cuantitativa.

- PT (*peptide tagging*): Identificación mediante etiqueta de secuencia. Se realiza por secuenciación total o parcial, normalmente con ESI-MS/MS. Los especlómetros con posibilidad de MS/MS permiten secuenciar fragmentos peptídicos, puesto que analizando partes del fragmento en cuestión se tiene capacidad de llegar hasta aminoácidos libres y realizar una secuenciación. Esta técnica se inició en especlómetros con trampas de iones, que como su nombre indica permiten atrapar un determinado ion peptídico, pero, posteriormente, también se ha conseguido llevar a cabo en especlómetros con triple cuadrupolo con cámara CID (disociación inducida por colisión), en híbridos cuadrupolo-TOF (Q-TOF) e, incluso, en

especlómetros MALDI-TOF-TOF, mediante distintos diseños de ingeniería desarrollados debido a la competencia de tecnología y patentes entre los fabricantes de especlómetros de masas.

Bioinformática

La búsqueda de péptidos trípticos en bases de datos públicas (como NCBI) se realiza mediante diversos programas de búsqueda y acceso, como el Mascot o el Spectrum Mill. En mezclas complejas, lo normal es que las proteínas más abundantes enmascaren las otras y hay que eliminarlas si se quiere caracterizar las minoritarias. El caso más desarrollado es el suero humano, donde existen una decena de proteínas que suponen más del 90% del total, mientras que unas 25 suman el 99% del contenido proteico total, quedando el 1% restante para unas 200 proteínas. Cuando se quiere analizar una de esas minoritarias, algunas casas comerciales han desarrollado columnas de cromatografía que absorben y eliminan las proteínas mayoritarias, facilitando todo el estudio posterior y la identificación de esas proteínas minoritarias.

FUENTES



V

1. BIBLIOGRAFÍA BÁSICA GENERAL

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter, P.
Biología Molecular de la Célula, 4.^a ed. Omega, Barcelona, 2004.

Se trata de un excelente manual de biología molecular y celular, que refleja la importancia de los conocimientos de la biología abordados con un enfoque molecular. En la edición más reciente destacan muchas actualizaciones temáticas, habiendo sido sustituidos dos de sus autores (Bray y Watson) por dos nuevos (Johnson y Walter). Los autores siguen insistiendo en el prefacio, al igual que lo hacían en la 1.^a edición, en que «Existe una paradoja en el desarrollo de los conocimientos científicos. A medida que la información se va acumulando en cantidades cada vez mayores, los hechos inconexos y los misterios impenetrables pueden sustituirse por explicaciones racionales, y del caos surge la simplicidad...» El principal inconveniente del libro sería que el tratamiento del metabolismo queda relegado, lo que constituye un inconveniente para los alumnos de Bioquímica y Biología Molecular de las titulaciones de Ciencias de la Salud, ya que, para ellos, el libro no es suficiente. Esta extensa obra se divide en cinco secciones profusamente ilustradas con unos paneles a toda página, muy intuitivos e ilustrativos, con diagramas en color y explicaciones concisas. Cada capítulo se acompaña de varios resúmenes (de cada parte) y una extensa bibliografía, tanto del tema en general como de cada apartado. Posee un glosario final muy completo con la correspondiente traducción de los términos al inglés. El libro posee algunos complementos muy útiles para la docencia, tales como el libro de problemas *Molecular Biology of the Cell, 4th edition: A Problems Approach* (John Wilson y Tim Hunt son los autores), en inglés, así como un CD-ROM (que se adjunta con el libro) interactivo con todas las figuras del libro y con docenas de videoclips, animaciones, estructuras moleculares y micrografías de alta resolución, junto con los programas necesarios para visualizarlas.

Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. *Bioquímica, 5.^a ed. Reverté, Barcelona, 2003.*

Es un excelente libro de texto de Bioquímica, con una adecuada reestructuración y modernización de los contenidos. Sin romper la unidad textual, se va introduciendo a lo largo de la temática del libro una extensa e intensa información en aspectos estructurales de proteínas y enzimas. En apartados específicos se destacan los diversos aspectos relacionados con la medicina o con aspectos evolutivos.

Este interés por los aspectos evolutivos es una constante a la que, además, se dedican dos capítulos específicos: «Evolución bioquímica» e «Investigación de la evolución». Los capítulos 4 y 6 titulados «Investigación en proteínas» e «Investigación en genes» son muy útiles como base para la explicación de las modernas técnicas experimentales para el estudio de las macromoléculas. Al final de cada capítulo existe un apartado de términos clave, bibliografía muy completa y problemas y cuestiones, con las soluciones al final del libro. Posee un glosario de compuestos, con las estructuras químicas de cada uno de ellos, así como varios apéndices. El libro se puede complementar con otras herramientas (CD-ROM y transparencias), y posee recursos interactivos a través de su página web (visiones conceptuales, visiones estructurales, figuras en movimiento, técnicas animadas, exámenes, etc.).

Cooper GM. *La Célula, 2.^a ed. Marbán, Madrid, 2002.*

Edición española del original en inglés *«The cell: a molecular approach»*, traducido por expertos en biología molecular y oncología. Se trata de un texto ambicioso para cursos de biología celular y molecular, con información más básica de Bioquímica. Los contenidos están divididos en cuatro secciones. La primera aborda el origen y composición de las células, sus métodos de estudio y los fundamentos de la biología molecular. La segunda expone la organización del genoma y la transmisión de la información genética. La tercera analiza la estructura y el funcionamiento de la célula eucariótica y la última comprende los mecanismos de regulación de las actividades celulares. Concluye con un capítulo de cáncer. El libro presenta características muy interesantes. Cada capítulo contiene una sección fácilmente distinguible (caja azul) denominada «experimento clave», que describe un experimento relevante, en relación con el tema de estudio, dando detalles del contexto histórico, las técnicas empleadas y el impacto y la aplicación del mismo en la actualidad. Además, existe otra sección (caja verde) denominada «medicina molecular» que describe alguna patología relacionada con el tema, sus bases moleculares, y los métodos de prevención y tratamiento. Al final de cada capítulo, hay un resumen a modo de esquema con palabras clave, bibliografía por apartados y cuestiones, cuyas respuestas se encuentran al final del libro. Posee un glosario de términos, así como un conjunto de preguntas y otro material complementario, destacando un CD-ROM para el alumno (existe otro para el profesor) y un juego de transparencias (150), además de un archivo con 500 preguntas y respuestas razonadas. Existe una tercera edición de la obra original en inglés editada en 2003, en la que Robert Hausman aparece como nuevo autor junto a Geoffrey Cooper.

Devlin TM. Bioquímica. Libro de Texto con Aplicaciones Clínicas, 4.^a ed. Reverté, Barcelona, 2004.

Esta obra, de autoría múltiple (Thomas Devlin es el coordinador), corresponde a la quinta edición de la versión original en inglés (*Textbook of biochemistry with clinical correlations*). En esta edición, la obra aparece en un solo tomo y, como en las ediciones anteriores, ofrece un abordaje de los procesos bioquímicos de los animales superiores, con especial referencia al ser humano. Resalta, respecto a otros textos clásicos de Bioquímica, la constante alusión a correlaciones clínicas a lo largo de la exposición, al lado de los detalles puramente bioquímicos, lo que hace el texto más ágil y rápido a la hora de asociar procesos básicos con desórdenes patológicos conocidos. Las correlaciones clínicas vienen numeradas y englobadas en cajas de color salmón, facilitando su localización a lo largo del texto, pero sin romper la continuidad del mismo. Cada capítulo finaliza con bibliografía distribuida según apartados y una serie de preguntas de elección múltiple y sus respuestas razonadas. El texto también incluye un apéndice conciso de química orgánica, con conceptos básicos muy útiles.

Janeway A, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. Inmunobiología. El sistema inmunitario en condiciones de salud y enfermedad. 2.^a ed. Masson, Barcelona, 2003.

Ésta es la versión española de la quinta edición del mismo título en lengua inglesa. Es una excelente obra general con contenidos actualizados adecuadamente, muy bien organizados y desarrollados con claridad. Pero sobre todo destaca por la presentación y diseño gráfico de las imágenes, muy abundantes, que ayudan de manera amena a comprender los mecanismos que subyacen en el funcionamiento del sistema inmunitario en condiciones tanto fisiológicas como patológicas.

Lewin B. Genes VII. Marbán, Madrid, 2001.

Última edición española de un renombrado libro de texto, que cubre los contenidos de biología molecular, genética, biología celular y áreas relacionadas. Un cambio importante respecto a las ediciones anteriores es el enfoque del libro, que solía empezar con un análisis genético tradicional, y ahora ha pasado a presentar la materia basándose directamente en las propiedades moleculares de los genes. Es útil, tanto para estudiantes de diplomaturas y licenciaturas de ciencias biológicas y de la salud como para alumnos de doctorado y posdoctorales relacionados con el área de Biología Molecular. Cada tema contiene al final un resumen y una buena bibliografía que comprende desde revisiones relevantes hasta alguna cita histórica y las referencias de los descubrimientos de más envergadura relacionados con el capítulo. La iconografía es excelente y el libro finaliza con un glosario actualizado y completo. Existe una nueva edición en inglés *Genes VIII*, editada por Prentice Hall y publicada en 2004.

Lodish H, Berk A, Zipursky L, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. Biología Celular y Molecular, 4.^a ed. Editorial Médica Panamericana, Madrid, 2002.

Traducción del original inglés titulado *Molecular Cell Biology* (4th ed. Freeman, 2000). Este excelente libro agrupa e integra disciplinas como la Genética, la Bioquímica, la Biología Molecular y la Biología

Celular. El contenido y el enfoque son muy actuales, con capítulos nuevos sobre la interacción de las células en el desarrollo y el cáncer. Además, viene reforzado por el CD-ROM original en inglés, que incluye tres tipos de animaciones: generales, focalizadas y técnicas. Los autores han Enriquecido la obra con numerosas ilustraciones a color, resúmenes al final de cada tema, comentarios sobre las aplicaciones en medicina, biología vegetal, bioquímica, farmacia, agronomía, biología molecular y biotecnología, además de los cuestionarios de autoevaluación para afianzar los nuevos conocimientos. Cada tema se abre con una pequeña introducción que analiza el contenido del capítulo y concluye con un resumen completo y una serie de preguntas de repaso. Las respuestas a las mismas están comentadas en una guía traducida de la original inglesa que consta de tres partes: revisión de conceptos, análisis experimental y soluciones a los problemas. Existe una quinta edición en inglés, publicada por Freeman en 2003, en la que cambian algunos de los autores. Está anunciada la próxima aparición de la quinta edición en español.

Luque J, Herráez A. Texto ilustrado de Biología Molecular e Ingeniería Genética. Harcourt, Madrid, 2001.

Se trata de un libro de texto original, poco convencional, pero muy riguroso y actualizado. Su buena aceptación, además de varias reimpresiones mejoradas, ha obligado a preparar una nueva edición de próxima aparición. Viene acompañado por un CD-ROM que contiene las 79 imágenes del libro. La explicación de los contenidos está realizada mayoritariamente sobre esquemas del tipo «pizarra o apuntes», donde las figuras cobran una relevancia de primer plano, y la mayoría de las veces es el texto el que apoya a las figuras y no al contrario. Por eso, resulta muy ilustrativo y de fácil manejo, ya que el diseño visual consigue facilitar la comprensión y enriquecer la exposición. Su contenido no abarca la Bioquímica estructural ni la metabólica. Está anunciada una próxima nueva edición.

Mathews CK, Van Holde KE, Ahern KG. Bioquímica. 3.^a ed. Addison-Wesley, Madrid, 2002.

Otro libro clásico, traducido de su original inglés *Biochemistry*, con la estructura habitual de los libros de texto, en la que destacan dos capítulos novedosos: «Función proteica y evolución» y «Proteínas en movimiento: sistemas contráctiles y motores moleculares». El libro incluye una gran cantidad de ejemplos clínicos asociados al metabolismo de los mamíferos, la farmacología molecular y la Bioquímica fisiológica. Como auxiliares didácticos emplea conceptos clave en los márgenes de las páginas, un resumen de los aspectos tratados y numerosos problemas, al final de cada capítulo, junto con bibliografía por apartados. Además, es de reseñar el apartado «herramientas de Bioquímica», con explicaciones breves al final de cada capítulo, en las que se describe una técnica de investigación. Asimismo, esta tercera edición viene acompañada de un CD-ROM como guía electrónica de estudio.

McKee T, McKee JR. Bioquímica. La base molecular de la vida. 3.^a ed. Mc.Graw Hill-Interamericana, Madrid, 2003.

Con una extensión algo inferior a la de la mayoría de los demás textos, la comodidad de su manejo no sólo obedece al tamaño, ya que los autores han conseguido una obra que resume con rigor y

acuerdo los aspectos más importantes de un programa de Bioquímica y Biología Molecular. Cabe destacar la calidad y claridad de las ilustraciones y el contenido de los «recuadros de interés especial», donde se describen aménamente desde las diversas técnicas bioquímicas a variadas aplicaciones biomédicas y biotecnológicas. Los capítulos incluyen una relación de sus palabras clave y una serie de preguntas divididas entre preguntas a lo largo del capítulo y preguntas de revisión y preguntas de razonar al final del capítulo, con sus respuestas adecuadas al final de la obra. También se incluyen un resumen y bibliografía recomendada. Al final del libro existe, asimismo, un glosario de más con 600 términos.

Montgomery R, Conway TW, Spector AA, Chappell D. *Bioquímica: Casos y Texto*, 6.^a ed. Harcourt Brace, Madrid, 1998.

Edición en castellano del original inglés *Biochemistry. A case-oriented approach*. El texto es original porque presenta la Bioquímica básica en estrecha relación con estudios de casos clínicos. Esto refuerza los nexos entre la Bioquímica básica y los estados de salud y enfermedad, ya que la exposición de la teoría va seguida de una aplicación clínica directa, marcada de forma fácilmente distinguible del texto teórico. Además, en cada capítulo se plantean varios casos clínicos, cuya exposición se complementa con una serie de preguntas comentadas. Los autores han incluido en cada tema preguntas de respuesta múltiple y una bibliografía concisa. La orientación eminentemente biomédica se refuerza en los apéndices. Por ejemplo, el apéndice C contiene tablas con las recomendaciones nutricionales de vitaminas y sales minerales según la edad, el sexo, el peso, y la talla, entre otros. El apéndice D expresa las unidades internacionales para valores químicos utilizados habitualmente en Bioquímica Clínica. El apéndice E define los valores analíticos normales y anormales, y en el F se tabulan los valores normales de los aminoácidos en sangre en función de la edad. Las guardas de la obra presentan una tabla con una gran cantidad de valores normales de compuestos habitualmente determinados en el laboratorio clínico. La propia orientación clínica limita su utilidad docente general ya que algunos aspectos de gran interés de la Biología Molecular o Celular se tratan con poca profundidad o están ausentes.

Nelson DL, Cox MM. *Lehninger, Principios de Bioquímica*, 3.^a ed. Omega, Barcelona, 2001.

Esta nueva edición, muy actualizada, consigue mantener la organización y excelentes cualidades didácticas de las ediciones clásicas del libro de Albert Lehninger de los años setenta. El resultado es un texto completamente contemporáneo que enfatiza los hallazgos más recientes y sus aplicaciones, sin abandonar el núcleo clásico de la materia. El temario con numerosas ilustraciones (820) muy bien diseñadas, está dividido en cuatro partes: fundamentos de Bioquímica; estructura y catálisis; bioenergética y metabolismo; las rutas de la información. Cada tema va seguido de un resumen conciso y una buena bibliografía, tanto de libros como de artículos científicos. Además, contiene una serie de preguntas y

problemas relacionados con el tema. Al final del libro existe un glosario de términos, así como las soluciones de los problemas. Una ampliación de algunas de estas soluciones están incluidas en un libro de ayuda en español titulado «Guía de principios de Bioquímica de Lehninger con las soluciones de los problemas», aunque está editado en 1987 (Eikeren, PV). Como complemento, existe un CD-ROM en inglés y una página web de consulta. Se ha realizado una nueva edición en inglés, la cuarta, publicada por Freeman en 2004.

Roca P, Oliver J, Rodríguez AM. *Bioquímica. Técnicas y métodos*. Editorial Hélice, Madrid, 2003.

Se trata de una excelente obra referida a la metodología bioquímica que, a lo largo de sus 22 capítulos, pasa revista a la práctica totalidad de técnicas y métodos de análisis de biomoléculas utilizados en un laboratorio de Bioquímica. El libro emplea un enfoque ameno y diferente; su contenido se ha organizado en torno a las propias biomoléculas, de modo que las técnicas generales de experimentación se van mostrando, en un contexto didáctico, a medida que se revelan necesarias para el análisis bioquímico.

El libro comienza con cuatro capítulos en los que se introducen las técnicas, el método analítico, la seguridad en el laboratorio y la obtención de muestras. Entre los siguientes capítulos se alternan aquellos en los que se estudian las técnicas utilizadas para la determinación de un determinado tipo de molécula (bioelementos, aminoácidos, proteínas, lípidos, glúcidos, ácidos nucleicos) con los referidos a técnicas generales (identificados con una banda gris), que van apareciendo en el texto a medida que se hacen necesarias para el análisis de las biomoléculas. El libro se acompaña de un CD-ROM muy didáctico y muy bien estructurado que incluye los mismos temas del libro, con explicaciones visuales y dinámicas de los aspectos tratados, así como protocolos específicos de las técnicas estudiadas y enlaces a páginas web. Al final del libro aparece un anexo con bibliografía especificada por capítulos. Por todo ello, se trata de una obra muy recomendable para el aprendizaje de las técnicas de laboratorio en Bioquímica.

Voet D, Voet JG. *Bioquímica* 3.^a ed. Editorial Médica Panamericana, Madrid, 2005.

Este texto corresponde a la tercera edición en inglés publicada por John Wiley en 2004. Hasta hora sólo existía en español la traducción de la primera edición, publicada por Ediciones Omega en 1992. Existe también un manual de soluciones a los problemas propuestos, publicado por la misma editorial en 1993. La nueva edición se anuncia con el complemento de un CD-ROM, denominado *Interacciones Bioquímicas*, que amplía la información presentada en el libro de texto mediante el empleo de una variedad de gráficos moleculares tridimensionales y animaciones interactivas. Contiene, asimismo, una extensa serie de ejercicios interactivos y exploraciones guiadas, animadas por computación. El CD también contiene una serie de *Kinemages*, que son imágenes animadas de proteínas y ácidos nucleicos, que se discuten en el texto y que los estudiantes pueden manipular. Existe también una página web en inglés para consultas.

2. ALGUNOS PORTALES DE INTERNET DEL ÁMBITO IBEROAMERICANO QUE CONTIENEN AYUDAS DOCENTES EN BIOQUÍMICA Y BIOLÓGIA MOLECULAR

- Argenbio. Buen portal biotecnológico argentino:
<http://www.porquebiotecnologia.com.ar/index.asp>
- BioROM 2005 Excelente proyecto, auspiciado por la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular, en el que colaboran profesores de más de una docena de Instituciones, con la finalidad de aportar nuevas herramientas a los profesores, y ayudar a los estudiantes a aprender practicando, así como practicar con los conceptos. Se alberga y se puede descargar de varios portales. Entre ellos:
<http://www.ehu.es/biomoleculas/>
<http://www.biorom.uma.es/>
- Colegio de Bachilleres del Estado de Sonora (Méjico). Prof. Valenzuela Olaje. *Apuntes de Biología*:
<http://mx.geocities.com/avolaje>
- IES La Rábida (Huelva). Prof. Lourdes Luengo. *Apuntes y prácticas de biología y de ingeniería genética en Enseñanza secundaria*:
<http://www.arrakis.es/~lluengo/biologia.html>
- IES Moncho Valcarce, As Pontes (La Coruña). Prof. J.A. Cortés. *Recursos didácticos y evaluaciones para biología y otras asignaturas en Enseñanza Secundaria*:
<http://www.joseacortes.com/>
- Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular. Entre otras informaciones útiles, *un directorio de recursos educativos*:
<http://www.sebbm.com/scripts/directorio.asp> y un *Bio-Glosario en desarrollo*:
<http://sebbm.bq.ub.es/BioROM/contenido/Glosario>
- Universidad Autónoma de Madrid. Prof. García Villalón: *Transporte y canales iónicos*:
http://www.uam.es/personal_pdi/medicina/algvilla/guiones/canales.html
- Universidad Carlos III de Madrid. Departamento de Física. Prof. José Ramón Martín Solís: *Guiones de Biofísica*:
http://bacterio.uc3m.es/docencia/doctorado/sistemas_complejos/biofisica/
- Universidad Católica de Valparaíso, Chile. Prof. Graciela Muñoz Rivero. *GenWeb, un curso de Genética muy didáctico y muy bien presentado*:
<http://ejb.ucv.cl/gmunoz/genweb/index.html>
- Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Medicina. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Profs. A. Martínez-Conde y P. Mayor: *Buen material didáctico, sobre todo de metabolismo y genética mitocondrial*
<http://www.lab314.com/>
- Universidad de Alcalá de Henares. Prof. Angel Herráez Sánchez, conservador y creador de la *Página principal del sitio web «Biomodel»*, con un amplio repertorio de los recursos docentes existentes, principalmente en español:
<http://www2.uah.es/biomodel>
- Universidad de Baleares. Grupo de Metabolismo energético y Nutrición. Valioso material didáctico. *Estructura de Biomoléculas, Transducción de señales; PCR*:
http://gmein.uib.es/otros/tipos_señal/tipos_señal.htm
<http://gmein.uib.es/otros/regulacion/neuroendocrina.htm>
<http://gmein.uib.es/PCR/index.htm>
- Universidad de Barcelona. Departamento de Biología Celular Animal y Vegetal. Prof. Manuel Reina. *Portal muy completo, de gran utilidad docente, sobre Biología celular*:
<http://www.ub.es/biocel/wbc/index.htm>
- Universidad de Cantabria. Departamento de Biología Molecular. Prof. Javier León. *Material de apoyo de bioquímica estructural y metabólica*:
[http://grupos.unican.es/asignaturabioquimica/material %20_apoyo.htm](http://grupos.unican.es/asignaturabioquimica/material_%20_apoyo.htm)
- Universidad de La Laguna. Prof. Javier Corzo. *Transporte a través de membranas*:
<http://webpages.ull.es/users/bioquibi/parcial1/transporte/inicio.htm>
- Universidad de Málaga. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Prof. José Luis Urdiales y otros. *Aula Virtual de Biología Molecular y Bioquímica*:
<http://av.bmbq.uma.es/>
- Universidad Miguel Hernández (Alicante). Prof. Sanz Morales. *Curso de diseño de proteínas; Estructura de macromoléculas*:
<http://ibmc.umh.es/jmsanz/Diseno/inicio.htm>
<http://ibmc.umh.es/jmsanz/Est1/Est2/Est3/estructuras.htm>
- Universidad Miguel Hernández (Elche). Prof. F. Moya. *Biología celular*:
<http://ibmc.umh.es/biocel/default.htm>
- Universidad de Murcia. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular (A). *Aula Virtual de Biología*:
<http://www.um.es/~molecula/indice.htm>
- Universidad de Murcia. Departamento de Bioquímica, Biología Molecular (B) e Inmunología. *Diverso material docente, incluyendo exámenes, crucigramas, etc*:
<http://www.um.es/bbmbi>
- Universidad Nacional de Mexico. Prof. Vázquez-Contreras. *Bioquímica y Biología Molecular en línea*:
<http://laguna.fmedic.unam.mx/~evazquez/0403/resinf.html>

- Universidad Nacional del Nordeste. Argentina. Diversos hipertextos del área de la biología. *Macromoléculas, metabolismo, ADN, etc.*:
<http://www.biologia.edu.ar/>
- Universidad de Oporto. *Portal portugués de Bioquímica*:
<http://www.bioquimica.online.pt/>
- Universidad de Salamanca. Depto. Bioquímica y Biología Molecular. Curso de los Profs. Villar y Muñoz. *Bioenergética, Metabolismo glucídico y su regulación*
<http://web.usal.es/%7Evillar/>
- Universidad de Salamanca. Biología y bioquímica molecular. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. *Recursos docentes variados con amplias iconografías*:
<http://web.usal.es/~evillar/>, Modelos moleculares:
<http://www3.usal.es/~dbbm/modmol/index.html>
- Universidad de Talca. Chile. Raúl Herrera y Alejandra Moya: *Proteínas*:
<http://www.biorom.uma.es/contenido/Talca/tutorial/2frmcont.html>
- Universidad de Valladolid. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Fisiología. Profs. López López y Pérez García: *Amplia gama de recursos docentes en Bioquímica y Fisiología*:
<http://analisis.med.uva.es/>
- Universidad del País Vasco. Prof. González Mañas. *Curso de Biomoléculas*:
<http://www.ehu.es/biomoleculas>
- Universidades de Arizona, Nacional de Formosa (Argentina) y de Chile. El Proyecto Biológico. *Recursos interactivos online, con guiones y evaluaciones, para aprender, entre otras materias biología celular y bioquímica*:
<http://www.biologia.arizona.edu/default.html>
- Universidades de Campinas y São Paulo (Brasil). *Ensino de Bioquímica. Descripción de cursos, software educacional, guiones de prácticas (en portugués)*:
<http://ensino.ibi.unicamp.br/bioq.html>

CONTENIDO DEL CD-ROM DE ACOMPAÑAMIENTO



- **Capítulo 1. Bioquímica y Biología Molecular: orígenes y desarrollo, como ciencias específicas**
 - Animación 1
Objetivo de la Bioquímica.

- **Capítulo 3. Un protagonista excepcional: el agua**
 - Animación 2
El agua
Estructura del agua explicando las características de la molécula sobre la Figura 2-1 del libro.

 - Animación 3
Polaridad del agua
Animación en donde se explica el enlace por puente de hidrógeno entre dos moléculas de agua, y a continuación zoom inverso en donde aparecen más moléculas de agua unidas.

 - Animación 4
Estructura del agua, agua líquida y hielo.

 - Animación 5
Tampones fisiológicos
Cambios del pH con el cambio de concentración de la base en una disolución tampón.

 - Animación 6
Presión osmótica.

- **Capítulo 4. Las reglas: metabolismo y bioenergética**
 - Animación 7
Carga energética y procesos metabólicos.

 - Animación 8
Estructura del ATP/ADP/AMP.

- **Capítulo 5. Hidratos de carbono**
 - Animación 9
Estructura de los hidratos de carbono.

- **Capítulo 6. Lípidos**
 - Animación 10
Estructura de los lípidos.

- **Capítulo 7. Aminoácidos y proteínas**
 - Animación 11
Estructura de los aminoácidos.

 - Animación 12
Características ácido-base de los aminoácidos.

 - Animación 13
Enlace peptídico.

 - Animación 14
Niveles de organización de las proteínas (cuatro niveles de complejidad).

 - Animación 15
Estructura secundaria de las proteínas.

 - Animación 16
Estructura terciaria de las proteínas.

 - Animación 17
Estructura cuaternaria de las proteínas.

 - Animación 18
Proteínas: ejemplos de estructuras de proteínas.

- **Capítulo 8. Ácidos nucleicos**
 - Animación 19
Estructura de los ácidos nucleicos.

- **Capítulo 9. Enzimas**
 - Animación 20
Enzimas: energía libre de Gibbs.

 - Animación 21
Enzimas: modelos de Fischer y Koshland.

- Animación 22
Estructuras de vitaminas y coenzimas.
- Animación 23
Actividad enzimática.
- Animación 24
Estado estacionario.
- Animación 25
Cinéticas bisustrato (desplazamiento doble y simple, ordenadas y al azar).
- Animación 26
Inhibición enzimática (competitiva, no competitiva y acom-petitiva).
- Animación 27
Alosterismo.
- **Capítulo 10. Membranas biológicas**
 - Animación 28
Estructura de las membranas biológicas.
 - Animación 29
Membranas: difusión simple.
 - Animación 30
Membranas: difusión facilitada y cinética.
 - Animación 31
Membranas: transporte activo.
 - Animación 32
Membranas: ATPasa de Na^+/K^+ .
- **Capítulo 12. Mecanismos hormonales de la regulación metabólica**
 - Animación 33
Estructura de algunas hormonas.
 - Animación 34
Proceso de maduración de la insulina.
 - Animación 35
Eje de regulación hipotálamo-hipófisis glándulas endocrinas.
- **Capítulo 13. Obtención de energía y aprovechamiento de la energía**
 - Animación 36
Ciclo de Krebs.
- **Capítulo 14. Metabolismo de los hidratos de carbono**
 - Animación 37
Glicólisis.
- **Capítulo 15. Metabolismo de los lípidos. Lipoproteínas**
 - Animación 38
Betaoxidación.
- **Capítulo 18. La organización del material genético**
 - Animación 39
Flujo de información biológica.
- **Capítulo 31. Respuesta inmunitaria**
 - Animación 40
Estructura de las inmunoglobulinas.

ÍNDICE ANALÍTICO

A

- Abelson, leucemia murina, 492
Absorbancia UV, 96
Absorción de nutrientes, 180-185
Absortividad molar, 667, 669
Abzima, 135
Acetal, 68
Acetaldehído, 228
 deshidrogenasa, 228
AcetilCoA, 205, 223, 228
 carboxilasa, 262, 263
 carnitina transferasa, 256
 PTA transacilasa, 262
regulador del metabolismo
 de carbohidratos, 234, 237
 lipídico, 223, 262
Acetylcolina, 592, 594
Acetylcolinesterasa, 594, 669
 inhibidores, 150
 miastenia grave, 595
 modelo de acción, 137
Acetylcolintransferasa, 594
N-Acetylglucosamina, 66, 623
N-Acetylglutamato sintetasa, 283
AcetoacetilCoA sintetasa, 260
Aciclovir, 494
Ácido(s)
 acetilacético, 260
 N-acetilglutámico, 283
 N-acetilmurámico, 67, 623
 N-acetilneuramínico, 67
aconítico, 207
adenílico (véase AMP)
aldárico, 67
aldónico, 67
γ-aminobutírico, 93 (véase GABA)
δ-aminolevulínico, 529, 530, 531
araquídico, 76
araquidónico, 76, 79, 264
ascórbico, 67 (véase Vitamina C)
aspártico, 92
 ciclo de la urea, 281, 283
 familia biosintética, 291
biliares, 85
 absorción de lípidos, 182
 metabolismo, 269
 reciclaje enterohepático, 182
1,3-bisfosfoglicérico, 224, 239
2,3-bisfosfoglicérico, 225
 unión a hemoglobina, 523
γ-carboxiglutámico, 93
α-cetoglútárico, 207
citidílico (véase CMP)
cítrico, 207, 237
 ciclo, 205-207
 inhibidor de fosfofructoquinasa, 235
cólico, 86, 269
desaminoneuramínico, 67
desoxicólico, 86, 269
docosahexaenoico, 77 (véase DHEA)
elaídico, 76
esteárico, 76, 160
flavospídico, 534
fluorcítrico, 207
fólico, 139, 287
fosfoenolpirúvico, 224, 232
2-fosfoglicérico, 224
3-fosfoglicérico, 224, 239
6-fosfoglucónico, 229
fumárico, 207
 ciclo de la urea, 382
 destino carbonado de aminoácidos, 284
glicolilneuramínico, 67
glucárico, 67
glucónico, 67
glucurónico, 67, 230
 vía, 230
glutámico, 92
 familia biosintética, 291
grasos, 76
 biosíntesis, 262, 264
 desaturasas, 264
 elongación de cadena, 264
 esenciales, 77, 264
 estructura, 76
 insaturados, 76
 β-oxidación mitocondrial, 255
 β-oxidación peroxisómica, 258
 regulación de la biosíntesis, 263
 rendimiento energético, 257
 ω-3, 76
guanílico (véase GMP)
hialurónico, 230, 621, 622
β-hidroxibutírico, 260
homogentísico, 288

- inosínico (véase IMP)
 isocítrico, 208
 láctico, 224, 226, 233, 659
 linoleico, 76, 258
 linolénico, 76, 160
 lipoico, 139, 227
 lipoteicoico, 623
 litocólico, 86, 269
 málico, 207
 malónico, 207
 mirístico, 76
 nalidíxico, 336
 neuramínico, 67
 nucleico (véase ADN y ARN), 117
 oleico, 76, 258
 orótico, 297
 orotidílico, 297
 oxalacético, 207, 232
 palmítico, 76, 262, 264
 palmitoleico, 76
 pantoténico, 139, 141, 227
 piroglutámico, 93
 pirúvico, 214, 227, 228
 quenodesoxicólico, 86, 269
 salicílico, 230
 siálico, 67
 succínico, 207
 sulfhídrico, 213
 timidílico (véase TMP)
 úrico, 296, 297
 uridílico, 119, 297
 urónico, 66
 xantílico (véase XMP)
- Acidosis, 38
 metabólica, 38
 respiratoria, 38
- Aciduria
 arginosuccínica, 283
 metilmalónica, 285
 orótica, 298
- Acilación, 456
 Acil transferasas, 264
 AcilCoA
 deshidrogenasa, 210, 256, 257
 oxidasa, 259
 sintetasa, 255, 258, 263
- Acilglicerídos, 78
- Aconitasa, 207
- Acrecentador (véase Intensificador)
- Acridinas, 336
- ACTH, 98, 196, 254, 310, 590
- Actina, 562
- Actinomicina D, 336, 354
- Actinomyces viscosus*, 660, 662
- Activador génico, 352
- Actividad enzimática, 143
 específica, 143
- Actomiosina, 563
- Acuaporinas, 42
- Addison, enfermedad, 44
- Adenilato, 119
 ciclasa, 195-199, 254
 desaminasa, 294
 quinasa, 294
- Adenilsuccinato
 liasa, 294
 sintasa, 294
- Adenina, 118, 119, 292
 fosforribosil transferasa, 293
- S-adenosil metionina, 286
- Adenosina, 119, 292
 desaminasa, 296, 432, 442
 de ARN, 393
 neurotransmisor, 590, 592
- ADN, 117
 A, 123, 124
 apareamiento de bases, 123, 124
 B, 124
 cebador, 329
 cíclico (véase ADNc)
 composición de bases, 120, 122
 cromosómico, 321
 desnaturalización, 125
 doble hélice, 122-125
 empaquetamiento, 126
 estructura, 122-127
 foráneo, 402
 fragmentación específica, 402
 girasas, 332
 glicosilasas, 339
 inserto, 402, 407
 lesiones, 338-341
 ligasa, 331, 334-336, 339, 340, 342, 344
 metilación, 434, 488
 microsatélite, 323
 minisatélite, 323
 mitocondrial, 125, 214, 324-326, 337, 681
 molde, 329
 no codificador, 323
 polimerasa
 α, 335-336
 β, 335, 339
 δ, 335-336
 ε, 335-336
 γ, 335, 337
 I, 332, 334
 II, 332
 III, 332-333
 actividad exonucleasa, 333, 334
 dependiente de ADN, 332-337
 dependiente de ARN (véase Transcriptasa inversa)
 en PCR, 413
 en secuenciación de ADN, 410
 viral, 488
- quimera, 402
 recombinación, 341
 recombinante, obtención y clonación, 402-410
 renaturalización, 82
 reparación, 338-341
 repetitivo, 323

- replicación
 - en eucariotas, 334-338
 - mitocondrial, 337
 - en procariotas, 331-334
- satélite, 323
- tamaño y formas, 123
- tándem, 323
- topoisomerasas, 331, 332, 335, 336
- transcripción, 349
- triplex, 123
- Z, 123
- ADNasas, 331, 334, 339
- ADNc, 407
 - diana en PCR, 413
 - síntesis, 409
- ADP, neurotransmisor, 590
- Adrenalina, 193, 254, 592
 - contracción muscular, 566
 - síntesis, 288, 290
- Adrenocorticoïdes, 86
- Adrenoleucodistrofia, 260
- Afibrinogenemia, 520
- Afidicolina, 336
- Afinidad
 - antígeno-anticuerpo, 546
 - enzima-sustrato, 137
 - hormona-receptor, 193
- Aglutinógenos, 654, 656
- Agonistas, 590
- Agrecanos, 624, 626
- Agua
 - compartimentos, 32
 - equilibrio hídrico, 30
 - estructura, 29
 - extracelular, 32
 - funciones, 32
 - ingesta y excreción, 32
 - intracelular, 32
 - ionización, 34
- Ajuste inducido, modelo, 135
- Alanina, 92
 - aminotransferasa, 280, 281
 - metabolismo, 289
- Albinismo, 629
- Albúmina, 99
 - plasmática, 520
- Alcalosis
 - metabólica, 38
 - respiratoria, 39
- Alcohol(es)
 - cetílico, 77
 - deshidrogenasa, 140
 - grasos, 77
- Aldimina, 615
- Alditoles, 66
- Aldolasa, 225, 234
 - hepática, 225, 226
- Aldosterona, 44, 574
- Al-lisina (véase Lisinal)
- Almidón, 69
 - digestión, 179
- Alo, formas, 94
- Alopurinol, 297
- Alosa, 64
- Alosterismo, 151-152
- Alteraciones poligénicas, 350, 437
- Altrosa, 64
- Alveolos pulmonares, 525
- Amanita phalloides*, 354
- α-Amanitina, 354
- Ameloblastina, 644
- Amelogénesis imperfecta, 645
- Amelogeninas, 644
- α-Amilasa, 179, 653, 654, 669
- Amilo-1,6-glucosidasa, 178-179, 241
- Amilopectina, 69
- Amilosa, 69
- Aminas biógenas, 96
- δ-Amino levulinato
 - hidrolasa, 529-530
 - sintasa, 529-530
- Aminoácidos, 91
 - absorbancia ultravioleta, 96
 - absorción digestiva, 183
 - anfoterismo, 94
 - aniónicos, 92
 - azufrados, metabolismo, 286
 - biosíntesis, 290
 - catabolismo carbonado, 284-290
 - catiónicos, 92
 - cetogénicos, 284
 - descarboxilasas, 290
 - deshidratadas, 280
 - esenciales, 178, 290
 - estereoisomería, 94
 - estructura, 92
 - glucogénicos, 284
 - hidrofóbicos, 92
 - metabolismo tisular, 290
 - neurotransmisores, 590
 - no proteicos, 93
 - oxidadas, 279
 - polares, 92
 - proteínicos minoritarios, 93
- Aminoacidopatías, 284
- Aminoacil-ARNt, 365
 - sintetasas, 365-366
- Aminoazúcares, 67
- Aminopeptidasas, 177-178
- Aminopiridina, 586
- Aminopropionitrilo, 620
- Aminotransferasas, 228, 278-279, 668-669
- Amonio, iones, 283, 659
 - transporte al hígado, 281
- Amortiguador(es)
 - bicarbonato, 37, 653
 - fisiológicos, 36
 - fosfato, 36, 653
 - hemoglobina, 37
- AMP, 119, 292
- biosíntesis, 294

- cíclico (*véase AMPc*)
 - neurotransmisor, 590
- AMPc, 119, 195, 255, 383, 388
 - en contracción muscular, 566
 - elementos de respuesta (CRE), 388, 389
 - mecanismo de actuación, 197-198
 - movilización de grasas, 255
- Amplificación
 - de genes, en eucariotas, 392
 - génica y poliploidía, 436
 - de tripletes, 339
- Anabolismo, 49
- Anagénesis, 693
- Análisis bidimensional, 425
- Anapleróticas, reacciones, 206
- Andersen, glucogenosis, 243
- Andrógenos, 86, 126
- Anemia
 - falciforme, 434, 527
 - macrocítica o megaloblástica, 143
 - perniciosa, 143
- Anestésicos, 594
- Aneuploidías, 436
- Anfibólicos, procesos, 49, 206
- Anfolito, 32
- Angiogénesis, 502, 509
- Angiotatina, 513
- Angiotensina, 574
- Angiotensinógeno, 574
- Anhidrasa carbónica, 525, 654
- Animales transgénicos, 439
- Anión superóxido, 218
- Anomería, 65
- Anoniquia, 629
- Anorexia, 266
- Antagonistas, 590
- Anticodón, 365
- Antiinflamatorios, 79
- Anticuerpo, 542, 545
 - afinidad por antígeno, 546
 - reacciones cruzadas, 546
- Antígeno(s), 541, 548,
 - carcinoembrionario (CEA), 505
 - de histocompatibilidad, 548
 - de clase I, 549
 - de clase II, 550
 - oncofetales, 505
 - presentación, 553
 - vinculados a tumores, 505
 - únicos específicos del tumor, 505
- Antimetabolitos quimioterápicos, 299
- Antimicina, 213
- Antioncogenes, 130, 201, 341, 501, 508
- Antioxidantes, 218
- α_2 -Antiplasmina, 537
- Antitrombina, 536
- Antivirales, 492-495
- Apaf-1, 481
- Apamina, 586
- Apatito, 640-643
- Apoenzimas, 138
- Apolipoproteínas, 249
 - B-48, 250, 393
 - B-100, 250, 393
 - C, 250
 - E, 77, 250, 597
 - tipos, 249-250
- Apoptosis, 477-482
 - envejecimiento, 679
- Aporrepresor, 384
- Aptámeros, 128
- Arabinosa, 64
- Aracnodactilia, 621
- Arginasa, 282
- Arginina, 92, 465
 - deiminasa, 659
- Arginosuccinato, 282
 - lasa, 282
 - sintasa, 282
- ARN, 117
 - estructuras, 128
 - maduración, 356
 - mensajero (*véase ARNm*)
 - modificaciones postranscripcionales, 354-357
 - monocistrónico, 363
 - policistrónico, 363
 - polimerasa(s)
 - dependiente de ADN, 349
 - enzima núcleo, 349
 - holoenzima, 349
 - I, 351-352
 - II, 352-354
 - III, 351-352
 - mitocondrial, 352, 354
 - dependiente de ARN, 489
 - nucleares, 351
 - síntesis, 349
 - tipos, 121 (*véanse también ARN específicos, a continuación*)
 - ARNasa, 331
 - H, 407, 409
 - ARNhn, 121, 356, 362
 - ARNm, 121, 128, 351
 - eucariota, edición o corrección, 393
 - estructura, 363
 - regulación de la estabilidad en eucariotas, 391
 - ARNmi, 121, 395
 - ARNr, 121, 128, 322, 351, 355
 - ARNsc, 121
 - ARNsi, 121, 395
 - ARNsn, 121
 - ARNt, 121, 128, 365
 - iniciador, 367
 - isoaceptores, 365
 - Arrestina, 606
 - Arsenito, 207
 - Artritis reumatoide, 627
 - Artrosis, 627
 - Asparragina, 92
 - biosíntesis, 291
 - Asparraginasa, 291

- Aspartato, 92
 aminotransferasa, 215, 280
 carbamoiltransferasa, 297
- Aspirina, 79
- Astrocitos, 581
- Ataxia telangiectasia, 343
- Ateromas, 269
- Aterosclerosis, 269
- ATP, 119, 159
 en contracción muscular, 563
 en fosforilación oxidativa, 212-214
 como moneda energética, 52
 neurotransmisor, 590
 regulador de la glicolisis, 237
 como reserva energética, 568
 sintasa, 211
- ATPasa, 52
 de Na^+/K^+ , 164, 181, 585, 600
- Atropina, 594
- Autocrino, mecanismo, 191-192
- Autorradiografía, 405
- Autosomas, 321
- Avidez, antígeno-anticuerpo, 546
- Avidina, 143
- Avitaminosis, 142
- Axón, 582
- Axonema, 567
- Ayuno, adaptación metabólica, 308
- Azaserina, 299
- Azida sódica, 213
- Azúcares, 61
- AZT, 299, 494
- B**
- BAC, 407
- Bacteriófagos, 485
- Bacteroides melaninogenicus*, 659
- Bad, 480, 481
- Baltimore, clasificación de virus, 486, 487
- Banda
 A, de miofibrillas, 562
 I, de miofibrillas, 562
- Bases nitrogenadas, 117-118
- Bastones, 599-600
- Bax, 480, 481
- Bcl-2, 480, 481
- Becker, distrofia muscular, 434
- Benzodiazepinas, 587
- BER, 339
- Beriberi, 143
- Bifurcaciones metabólicas, 194
- Bik, 480, 481
- Bilirrubina, 230, 532-533
 diglucurónido de, 533
- Bilirrubinato de albúmina, 533
- Bilis, 180, 182, 268
- Biliverdina, 533
 reductasa, 533
- Bim, 480, 481
- Bioelementos, 19
- Bioenergética, 49-53
- Biología Molecular, concepto, 5
 hitos, 12-14
- Biomoléculas, 20
- Bioquímica,
 analítica, 667-675
 concepto, 5
 desarrollo, 11
 hitos, 10-12
 orígenes, 6
- Biotina, 139, 141, 232
- BMP, 646
- Bocio, 21
- Bohr, efecto, 523, 526
- Bombardeo de células con micropartículas, 438
- Bombas iónicas, 164, 565, 583
- Botulismo, 595
- BPG, 523
- Bradiquinina, 590
- Bromuro de etidio, 404
- Browniano, movimiento, 41, 147
- C**
- Cabtree*, efecto, 504
- Cadaverina, 96, 290
- Cadena respiratoria, 209-210
 control, 213
 desacopladores, 213
 inhibidores, 213
- Cadherinas, 511
- Caenorhabditis elegans*, 419
- Cafeína, 197
- Calambre, 565
- Calcificación, 644
- Calcio, 199, 241, 243, 638
 coagulación, 563
 contenido en organismo, 638
 contracción muscular, 563
 liberación de neurotransmisores, 592
 regulación, 639
 visión, 607
- Calcitonina, 505, 639
 gen, 391
- Cálculos dentales, 660
- Callo, 629
- Calmodulina, 241, 565, 593
- Calnexina, 459
- Calor
 específico, 31
 de vaporización, 31
- Calreticulina, 459
- Calsecuestrina, 564
- Camptotecina, 336
- Canal
 de Ca^{2+} , 588

- de Cl⁻, 587
- iónico, 582
- de K⁺, 585, 586
- de Na⁺, 585, 600
 - y trasducina, 606
- regulado
 - por ligando, 582
 - por voltaje, 582
- Cáncer, 501-516
 - alteraciones
 - cromosómicas, 506
 - génicas, 506
 - terapias, 299, 512
- CAP, 383
- Caperuza de ARN, 356, 372
- Cápside, 485
- Caquexia cancerosa, 504
- Carbaminohemoglobina, 524
- Carbamoil fosfato (*véase* Fosfato de carbamoilo)
 - sintetasa I, 282
 - sintetasa II, 295
- Carbohidratos, 61
 - metabolismo, 223, 244
- Carboxihemoglobina, 524, 533
- Carboxipeptidasas, 177, 178
- Carcinogénesis, etapas, 502
- Cardiolipinas, 82
- Carga energética, 53
- Caries, 660-662
- Cariotipo, 321
- Carnitina, 255-256, 259
- Carotenos, 84, 218, 601
- Cartílago, 626, 646
- Caspasas, 479-481, 679
- Catabolismo, 49
- Catalasa, 218
- Catálisis
 - covalente, 137
 - enzimática, 133-138
 - general ácido-base, 137
- Cataratas, 618
- Catecolaminas, 236, 254, 590, 596
- β-Catenina, 142
- Catepsinas, 276
- Cavitación, zonas de, 648
- CDK, 469, 471
- Cebador(es) *primer*, 329
 - alelo-específicos, 413-414
 - en PCR, 412
- Cefalinas, 81
- Ceguera
 - al color, 608
 - nocturna, 608
- Celíaca, enfermedad, 181
- Célula(s)
 - auxiliar empaquetadora, 495
 - fotorreceptoras, 599
 - gliales, 581
 - hospedadoras, 410
 - plasmáticas, 550
 - sanguíneas, 519
 - de Schwan, 581
 - transformadas, 402
- Celulasa, 70
- Cemento, 637
- Cementoblastos, 637
- Centro(s)
 - activo, 134
 - quirales, 63
- Ceramidas, 82
- Cerebro, perfil metabólico, 306
- Cerebrósidos, 82
- Ceruloplasmina, 184, 465, 521
- β-Cetoacetyl-PTA deshidratasa, 262-263
 - reductasa, 262-263
 - sintasa, 262-263
- Cetoacidosis, 261
- α-Cetoácidos deshidrogenasa, 228
- α-Cetoglutarato deshidrogenasa, 205, 207, 209, 228
- 3-Cetogulonato, 231
- Chaperona, 111, 453-454
- Chaperoninas, 111
- Cianuro, 213, 217
- Ciclinas, 469-470
 - quinasas (*véase* CDK)
- Ciclo(s)
 - ácidos tricarboxílicos (Krebs), 205, 223, 694
 - de Calvin, 239
 - celular, 337, 469
 - de Cori, 233
 - del glicoxilato, 208
 - de los nucleótidos purínicos, 279
 - de sustrato, 194, 234, 573
 - de la urea, 281-283
 - patologías, 283
 - regulación, 283
 - vital, 677
- Cicloheximida, inhibidor de la traducción, 372
- Cilios, 567
- Cinesinas, 567
- Cinética enzimática
 - actividad
 - catalítica, 143
 - específica, 143
 - bisustrato, 145
 - efecto
 - del pH, 146-147
 - de la temperatura, 146, 147
 - ensayo de actividad, 143
 - modelo
 - del ajuste inducido, 135
 - del estado estacionario, 144
 - del guante y la mano, 135
 - de llave-cerradura, 134-135
 - número de recambio, 138
 - teoría del estado de transición, 133-134
 - unidad
 - de actividad enzimática, 143
 - de concentración de enzima, 143
 - velocidades iniciales, 143

- Cinetócoro, 322
 Circulación portal, 224
 Cistatinas, 654
 Cistationina, 285
 sintasa, 285
 Cisteína, 92, 286, 289
 Cistina, 93
 Citidina, 119, 292
 Citocromos, 210
 b₅₆₀, 210
 c, 210, 481
 oxidasa, 209-210
 Citoesqueleto, 566
 Citoqueratinas, 628
 Citoquinas, 474, 505
 Citosina, 119, 292
 Citrato, 207
 biosíntesis de ácidos grasos, 216-217
 lasa, 216, 262
 sintasa, 205, 207, 208, 216
 Citrulina, 281, 282
 Citrulinemia, 283
 Cladogénesis, 693
 Clatrina, 463, 463
 Clón recombinante, 402
 Clonación, 684
 molecular, 401
 Cloranfenicol, 370, 372
 Clorofila, 529
 CMP, 119, 292, 297
 Coactivador, 354
 Coagulación sanguínea, 534-537
 inhibidores de los factores, 536
 vías, 534-535
 Coatómero, 454, 456, 460
 Cobalamina (*véase* Vitamina B₁₂)
 Cociente
 P/O, 216
 respiratorio, 173
 Código genético, 362-364
 Codón, 362
 sin sentido, 362
 sinónimo, 362
 de terminación, 362
 Coeficiente de extinción (*véase* Absortividad molar)
 Coenzima, 138
 A, 139, 255
 Q (*véase* Ubiquinona)
 Cofactor, 138
 Cola de poli(A), 356, 364, 391
 Colagenasa, 624, 627, 661
 Colágeno, 106, 614-618, 640
 Colchicina, 297
 Colecalciferol, 85, 638, 639
 Colesterol, 85, 161
 esterasa, 180
 metabolismo, 267
 Colestocitoquininas, 590
 Coligativas, propiedades, 40
 Colina, 78
 Colipasa, 180
 Coloides, 41
 Complejo
 enzima-sustrato, 134
 HLA, 548-550
 H-2, 548
 mayor de histocompatibilidad (MHC), 548
 multienzimático, 154
 piruvato deshidrogenasa, 210, 227, 228, 235, 307, 308
 respiratorio
 I, 209
 II, 210
 III, 210
 IV, 210
 Compuestos, de alta energía de hidrólisis, 52
 Condroblastos, 613, 626
 Condrodisplasias, 619
 Condroitina sulfato, 622
 Conectivopatías, 614
 Conectores de ADN, 407
 Conexina, 589
 Conexones, 618
 Conjugación con metales, 465
 Conos, 599
 Constante
 dieléctrica, 31
 de equilibrio, 50
 de ionización, 35
 de Michaelis-Menten, 145
 Consumos energéticos, 571
 Cótigos, 420
 Contracción muscular, 562-566
 músculo esquelético, 562-565
 músculo liso, 565
 Control
 genético del desarrollo, 474-476
 postraduccional, 392
 postranscripcional, en eucariotas, 389
 pretranscripcional, 387
 de la traducción, 372
 de la transcripción, 388
 Conversión de carbohidratos en grasas, 216-217
 Coprógeno, 529
 oxidasa, 529
 Coproporfiria hereditaria, 572
 Coproporfirinuria, 530
 Cori
 ciclo, 233, 504
 glucogenosis, 243
 Córnea, 618
 Correpresor, 354, 383
 Corte y empalme, del ARN, 356
 Corticoesteroides, 86
 Corticoliberina, 196
 Cortisol, 86, 573
 Cos, secuencia, 407, 409
 Cósmodios, 407, 409
 Cosustrato, 140

- Cotransmisor, 591
 Coumermicina, 336
 Creatina, 668
 quinasa, 568, 667, 669
 Cremallera de leucina, 394
 Crenación, 41
 Cristalinas, 618
 Cristalino, 618
 Cristalográfica de rayos X, 747
 Cromátidas hermanas, 321
 Cromatina, 126, 321
 Cromatografía, 746
 Cromosoma, X, inactivación, 437
 Cromosomas, 321
 aneuploidías, 436-437
 anomalías estructurales, 436
 CTP sintasa, 297
 Cuerpos cetónicos, 259-261
 de Heinz, 528
 Curare, 594
- D**
- Daltonismo, 602, 608
 Decametonio, 594
 Decorina, 624
 Dedos de Zn, 394
 Déficit de oxígeno, 575
 Degeneración macular, 599
 Deleciones, 434
 Dendritas, 582
 Dendrogramas, 693-694
 Dendrotoxina, 586
 Dentífricos, 662
 Dentina, 640, 644
 Dentinogénesis imperfecta, 645
 Depósitos grasos, movilización, 254
 Dermatán sulfato, 622
 Desacopladores de la cadena respiratoria, 213
 Desaminación de bases, 338
 Desarrollo embrionario, genes maternos, 475
 Desfuncionalización, 692
 Deshidratación, 29
 Deshidrocolesterol, 85
 Desmosina, 93, 617, 621
 Desnaturalización, 109, 136
 Desoxiazúcares, 66
 Desoxirribonucleótidos, 118
 biosíntesis, 298
 Desoxirribosa, 66
 Despolarización, 584
 Detergentes, 109
 Deuda de oxígeno, 575
 Dextrano(s),
 en placa dental, 656-657
 sacarasa, 656
 Dextrina límite, 240
 Dextrógiro, 64
 DFMO, 393
 DHEA, 680
 Diabetes, 61, 446, 477
 autoinmunidad, 555
 mellitus
 tipo I, 309, 555
 tipo II, 587
 Diacilglicerol, 78, 129
 Diálisis, 43
 Diastereoisómeros, 64
 DICER, 395
 Dicumarato, 213
 2,4-DienilCoA reductasa, 176
 Diferenciación
 celular, 469
 y desarrollo, 476, 477
 Digestión, 176
 alteraciones, 181
 Dihidrofolato reductasa, 393
 Dihidrolipoamida
 aciltransferasa, 227
 deshidrogenasa, 227
 Dihidroorotasa, 297
 Dihidroorotato deshidrogenasa, 297
 Dihidroxiacetona fosfato, 225, 226, 229, 239
 1,25-Dihidroxcolecalciferol, 638
 Dinamina, 462
 Dinefína, 567, 568
 2,4-Dinitrofenol, 210
 Dinitrogenasa, 275
 Dinorfinas, 590
 Dioxigenasas, 218, 601
 Dipeptidasas, 177
 Dipolo, 30
 Disacaridasa, digestiva, 178
 Disacáridos, 62, 69
 Disoluciones, 33
 coloidales, 33, 41
 iónicas, 39
 moleculares, 39
 reguladoras, 35
 Displasia dentinal, 645
 Distrofias musculares, 434, 566
 Doble híbrido de levadura, 425, 426
 Dolicol, 83, 458
 Dominio
 hélice-giro-hélice, 394
 hélice-lazo-hélice, 394
 de inmunoglobulinas
 c, 543
 v, 543
 proteico, 103
 DON, agente quimioterápico, 299
 Dopacromo tautomerasa, 630
 Dopamina, 288, 592
 Doss, porfiria aguda, 532
 Drepanocitosis, 527
Drosophila melanogaster, 419, 475
 control genético del desarrollo, 475-476
 Duchenne, distrofia, 42, 434, 442, 566

E

- E₁, activación de ubiquitina, 277
- E₂, conjugación de ubiquitina, 277
- E₃, unión de ubiquitina, 277
- E-cadherinas, 142
- Eco RI*, 404
- Edman, reactivo, 100-101
- Eficacia catalítica, 133
- EGF, 471-473
- Eje hipotálamo-hipofisario, 196
- Ejercicio
 - de fuerza-potencia, 571
 - de potencia sostenida, 571
 - de potencia-resistencia sostenida, 572
 - de resistencia aerobia, 572
- Elastasa, 177, 178
- Elastina, 107, 620
- Electroforesis, 34, 39, 746
- Electrólito, 32, 34, 39
- Electroporación, 438
- Elementos
 - de respuesta, 352
 - a hormonas, 388
- ELISA, ensayos, 669-671
- Elonguinas, 353
- Embden-Meyerhof-Harden (*véase* Glicólisis)
- Emery-Dreifuss, distrofia muscular, 566
- Enantiómeros, 64
- Encefalinas, 98, 590
- Encefalopatías espongiformes, 104
- Endergónica, transformación, 50, 52
- Endocitosis
 - mediada por receptor, 165
 - de LDL, 269-270
- Endonucleasas, 331
 - AP, 339
 - de restricción 402, 420, 488
 - de tipo II, 402
- Endopeptidasas, 598
 - digestivas, 177
- Endoperóxidos, 79
- Endoproteasas, 177, 464
- Endorfinas, 392, 590
- Endosimbiosis, 691-692
- Endosomas, 463
- Endostatina, 513
- Endorepelina, 513
- Endotelina, 590
- Endotérmica, transformación, 50
- Energía
 - de activación, 133
 - en el ejercicio físico, 571
 - aerobia, 573
 - anaerobia, 572
 - interna, cambio, 50
 - libre, cambio, 50, 134
- Enfermedad(es)
 - de Addison, 44
 - de Alzheimer, 597-598
- amiloides, 104, 597
- autoinmunitarias, 555
- autosómicas
 - dominantes, 432
 - recesivas, 432
- carenciales, 20
- celíaca, 181
- de Charcot-Marie-Tooth, 142
- cromosómicas, 436
 - ligadas al X, 431
- de Gilbert, 533
- de Glanzmann, 626
- lisosomales, 267, 462, 463
- de las membranas hialinas, 81
- mitocondriales, 214, 437
- monogénicas, 431, 432
- de la orina con olor a jarabe de arce, 285
- de Parkinson, 596
- peroxisómicas, 260
- Enlace
 - acetálico, 68
 - covalente, 21
 - fosfodiéster, 117, 330-331
 - glicosídico, 68
 - iónico, 21
 - peptídico, 96
 - por puente de hidrógeno, 30, 101
- Enoil
 - CoA hidratasa, 257
 - CoA isomerasa, 258
 - PTA reductasa, 263
- Enolasa, 226, 229, 662
 - específica, 505
- Ensayos enzimáticos
 - acoplados, 668
 - continuos, 667
 - discontinuos, 667
- Entactina, 619
- Entalpía, cambio, 50
- Enteropeptidasa, 177
- Entrenamiento físico, 576
- Entropía, cambio, 50
- Envejecimiento, 677-687
 - biomarcadores, 678
 - modelos animales, 678
 - restricción calórica, 678
- Enzima(s), 133
 - alosterismo, 151
 - modelo concertado, 151
 - modelo secuencial, 152
 - aplicaciones terapéuticas, 672
 - catalizadores, 133
 - cebadora, 333-335
 - clasificación, 136
 - convertidora de angiotensina, 669
 - cooperatividad, 151
 - desramificante, 241
 - digestivas, 176-180
 - estereoespecificidad, 134
 - formas R y T, 151

- interacciones
 heterotrópicas, 152
 homotrópicas, 152
 de interés clínico, 669
 médica, 206, 228, 232
 michaelianas, 144
 nombre trivial, 136
 nomenclatura, 136
 número de clasificación, 136
 procesivas, 329
 ramificante, 241
 regulación de la actividad, 152-154, 304
- Epidermis, 627
- Epidermolisis
 ampollosa distrófica, 619
 bullosa simple, 629
- Epigenético, control, 388
- Epímeros, 64
- Epinefrina (véase Adrenalina)
- Epitaxia, 646
- Epitelio retiniano pigmentado, 599
- Epítopo, 541,545
- Equilibrio ácido-base, 35
- Ergosterol, 85
- Eritroblastosis aviar, 492
- Eritromicina, 372
- Eritropoyetina, 574
- Eritrosa, 64
 4-fosfato, 229
- Erupción dental, 640
- Escalera de secuenciación, 411
- Escherichia coli*, 419
- Escinucleasas, 339
- Escleroproteínas, 99
- Escorbuto, 134, 614
- Escualeno, 84
- Esfingolipidos, 267, 625
- Esfingomielinas, 82
- Esfingosina, 78, 82
- Esmalte, 640, 644, 647
- Esmaltinas, 644
- Especies
 oxidadas en saliva, 656
 oxigenadas reactivas (véase ROS)
- Espectrometría de masas, 748
- Esperanza de vida, 677
- Espermidina, 290
- Espermina, 290
- Spliceosoma, 356, 357
- Estado de oxidación, 23
 de transición, 133
- Estaterina, 655
- Esteatorrea, 183, 268
- Estenosis aórtica supravalvular, 621
- Esterobilina, 533
- Esterobilinógeno, 533
- Estereoisomería, 65
- Esteroides, 84
- Esteroles, 85
- 17 β -Estradiol, 86
- Estreptolidigina, 354
- Estreptomicina, 372
- Estreptoquinasa, 537, 673
- Estrógenos, 86, 196
- Etanol, 228
- Etanolamina, 78, 81
- Etapa
 generadora de flujo, 194
 limitante de flujo, 303
- Eucromatina, 321
- Eumelanina, 630
- Evolución
 ciclo del citrato, 694
 ciclo de la urea, 696
 código genético, 696
 dirigida, 694-695
 enzimología, 694
 metabolismo, 695
 prebiótica, 690-691
 síntesis de ácidos grasos, 696
- Exergónica, transformación, 50, 52
- Exocitosis
 de quilomicrones, 250
 de VLDL, 251
- Exón, 320, 357
- Exonucleasas, 331
- Exopeptidasas, 177
- Exosoma, 357
- Exotérmica, 50
- Expansión
 de secuencias repetidas, 339
 de tripletes, 436
- Exportinas, 372
- Expresión genética, 382
 regulación
 en eucariotas, 387-393
 en procariotas, 382-387
- Extremos
 cohesivos, 402-404
 romos, en ADN, 404
- F**
- Factor(es)
 b de elongación de la transcripción (TEFb), 354
 de coagulación sanguínea, 534-537
 de crecimiento, 201, 469-470
 epidémico (véase EGF), 471-473
 nervioso (véase NGF), 476, 477
 semejante a insulina (véase IGF), 310
 transformante β (véase TGF- β), 470
 de diferenciación de osteoclastos (véase ODF)
 de elongación
 en la traducción, 367, 370
 en la transcripción, 354
 de iniciación de la traducción, 367, 370
 intrínseco, 143
 natriurético auricular, 29

- proteicos
 - de iniciación, quinasa, 494
 - de traducción, 365, 370
 - de respuesta estricta, 385
 - de terminación en la traducción, 367, 370
 - de transcripción, 352, 353, 388, 394
 - myc, 394
- FAD, 139, 140, 141, 205, 227
- FADD, 480
- Fago(s), 486
 - λ , en clonación, 407
 - T, 485
- FAK, 477
- Fagocitosis, sistema inmunitario, 547
- Farnesol, 84
- Fas, 480
- FasL, 480
- Fatiga y ejercicio, 526
- Fenilalanina, 92
 - catabolismo, 284
 - hidroxilasa, 287
- Fenilcetonuria, 287-288
- Fenilisotiocianato, 100
- Feniltiohidantoína, 101
- Fenobarbitona, 533
- Fenton, reacción, 218, 656
- Feomelanina, 288, 630
- Fermentaciones, 228, 659
- Feredoxina, 212
- Ferrihemoglobina, 522
- Ferrohemoglobina, 522
- Ferroquelatasa, 530
- α -Fetoglobulina, 521
- α -Fetoproteína (AFP), 505
- Fibras de cromatina, 127
- Fibras musculares, 511
- Fibrilina, 621
- Fibrina, 536
- Fibrinógeno, 520, 534, 536
- Fibrinólisis, 536
- Fibroblastos, 613
- Fibronectina, 476, 504, 626
- Fibrosis quística, 434
- Fick, primera ley de, 163
- Filamentos musculares, 562-563
 - intermedios, 566
- Fischer, estructuras, 63
- Fisher, modelo, 135
- Fitol, 83
- Flagelos, 567
- Flora dental, 655
- Floricina, 68
- Flujo de información genética, 319
- Fluoracetato, 207
- Fluorapatito, 641
- Fluorcitrato, 207
- Fluorescamina, 96
- Fluorosis, 643
- 5-Fluororacilo, 299
- Fluoruro, 226, 229, 662
 - caries, 661-662
- FMN, 139, 140, 141
- Fodrina, 582
- Fosfatasa(s)
 - ácida, 669
 - alcalina, 669-670
 - pancreáticas, 180
- Fosfatidilositoles, 82
- Fosfato
 - cálcico, 641, 645, 648
 - de carbamoilo, 281, 295
 - de creatina, 568
 - de inositol, 199
 - de piridoxal, 139, 140, 141, 278
- Fosfoacilglicéridos, 81, 82
- Fosfodiesterasa, 197, 242, 255, 604-607
- Fosfoenolpiruvato
 - carboxiquinasa, 232, 236
 - sistema, 658
- Fosfoforinas, 644
- Fosfofructoquinasa
 - 1, 225, 226, 234, 303-304, 570
 - 2, 226, 234
- 3-Fosglicerato
 - mutasa, 225, 226, 662
 - quinasa, 225, 232, 239
- Fosfogluconato
 - deshidrogenasa, 229
 - vía, 229
- Fosfoglucomutasa, 226, 662
- Fosfolipasas, 180, 199
- Fosfolípidos, 80, 180
- Fosforilación
 - cíclica, 212
 - /desfosforilación, 153, 198, 304
 - a nivel de sustrato, 205, 224
 - oxidativa, 211-213, 223
 - limitación energética, 570
 - rendimiento, 216
- Fósforo, contenido en organismo, 638
- Fosforribosil
 - amidotransferasa, 294
 - pirofosfato, 294
 - sintetasa, 294
 - transferasa, 293
 - Fotoliasas, 339
 - Fotorreceptoras, células, 599
 - Fotosistemas, 211-212
 - Fracción(es)
 - molar, 33
 - monocarbonadas, metabolismo, 287
 - Frame shifting, 364
 - Fructanos, 68, 656
 - Fructoquinasa, 226
 - regulación, 234, 235
 - Fructosa, 64
 - 1,6-bisfosfatasa, 225, 231, 234, 236, 304
 - 2,6-bisfosfatasa, 234, 236
 - 1,6-bisfosfato, 229, 234, 235, 304
 - 2,6-bisfosfato, 234, 235, 304
 - 1-fosfato, 225, 226, 234

6-fosfato, 224, 225, 229
metabolismo, 226
Fructosuria esencial, 226
Fucosa, 66
Fuerza(s)
 electrostáticas, 23
 polares, 23
 protomotriz, 211, 215, 658
 de Van der Waals, 23
Fumarasa, 207
Furanósido, 65

G

GABA, 93, 290, 590
Galactanos, 69
Galactoquinasa, 226
Galactosa, 64
 1-fosfato uridiltransferasa, 226
 metabolismo, 226
Galactosemia, 226, 608
 β -Galactosidasa, 381
 β -Galactósido
 permeasa, 381
 transacetilasa, 381
Gallus gallus, 419
Gangliósidos, 83
Gangliosidosis, 267
Gasto energético en el ejercicio, 521
Gastrina, 590
Gen(es), 319
 abatimiento, 440
 cartografía, 420
 constitutivo, 382
 env, 491-493
 envejecimiento, 679
 estructura, 319
 familias, 322
 gag, 491-493
 homeótico, 394, 475
 homólogo, 423
 nif, 275
 oncosupresores, 501, 508
 ortólogo, 423, 692
 parálogo, 423
 pol, 491-493
 regulable, 381
 regulador, 383
 tempranos, 472
Genoma
 análisis molecular, 420
 mitocondrial, 324
 organización, 320
 Humano, Proyecto, 420-422
 tamaño, 320, 419
Genómica, 14, 419
 comparativa, 422
 envejecimiento, 684
Genoteca, 407
 de ADNc, 409

Gibbs, ecuación, 41
Gibbs-Donnan, efecto, 41
Gingivitis, 660-662
Glándulas
 endocrinas, 191
 salivales, 654
Glicanos, 69, 622
Gliceralféhido, 63, 226
 3-fosfato, 225, 226, 229, 239
 deshidrogenasa, 210
Glicerol, 77, 78
 3-fosfato deshidrogenasa, 215
 gluconeogénesis, 231
Glicina, 92
 metabolismo, 288-289
 sintasa, 289
 neurotransmisor, 590
Glicocálix, 623
Glicocódigo, 62
Glicolípidos, 82
Glicólisis
 aerobia, 227-228
 anaerobia, 223-227
 y cáncer, 504
 regulación, 233-237
Glicoproteínas, 61, 623
 en dentina, 644
 metabolismo, 623
 N-, 458, 460
 O-, 462
 salivales, 654
Glicosaminoglicanos, 70, 621
Glicósido, 68
Glicosilación, 457
Glicosil transferasas, 462
Globinas
 familias génicas, 322, 435
Globóside, 83
Globulinas, 99
 plasmáticas, 520
Glóbulo fundido, 110
Glucagón, 61, 195, 234-238, 276, 308, 575
Glucanos, 69, 656
Glucemia, 61, 234, 236
 control, 304-308
 hepático, 305
Glúcido, 61
Glucocorticoides, 234, 236, 237
Glucógeno, 69
 digestión, 177
 fosforilasa, 240, 242
 fosfatasa, 242
 quinasa, 241, 242
 hepático, 237
 metabolismo, 237-243
 muscular, 238
 reguladores metabólicos, 141
 reserva energética, 237, 306, 519
 sintasa, 241-243, 304

Glucogenólisis, 223, 241, 242
 Glucogenosíntesis, 223, 241, 242
 Glucogenosis, 243, 267
 Gluconeogénesis, 223
 regulación, 233-237
 sustratos, 231
 Glucoquinasa, 134, 225, 234
 Glucosa, 64
 6-fosfatasa, 52, 225, 231, 233, 236, 237
 6-fosfato, 224, 225, 226, 233
 deshidrogenasa, 229, 230
 isomerasa, 225
 glicólisis, 224
 reserva energética, 569
 Glucosamina sulfatasa, 625
 Glucosaminidasa 1, fosfato, 461
 Glucósidos, 68
 Glucosil fosfatidil inositol, 456
 Glucuronato, ruta, 230
 β -Glucuronidasa, 533
 Glutamato, 92
 descarboxilasa y diabetes, 555
 deshidrogenasa, 280
 neurotransmisor, 592, 601
 γ -Glutamiltransferasa, 669
 Glutamina, 92
 sintetasa, 280
 Glutaminasa, 280
 Glutarredoxina reductasa, 298
 Glutatióñ, 98, 230, 298
 reductasa, 230
 Glutelinas, 99
 GMP, 119, 292
 biosíntesis, 293-294
 cíclico, 198
 activación de fosfodiesterasa, 604
 y canales de Na^+ , 600
 desactivación de fosfodiesterasa, 605
 guanilato ciclase, 606
 visión, 604-607
 guanilato reductasa, 294
 Golgi, aparato, 450
 Gonadoliberinas, 196
 Gota, enfermedad, 295-297
 Gramicidina, 166
 Grupo
 funcional, 22
 prostético, 98, 138
 GTP,
 en ciclo del citrato, 205
 en la traducción, 367
 GTPasa, 197, 605-606
 Guanidina, 595
 Guanina, 118, 292
 Guanilato ciclase, 198, 606
 Guanosina, 119, 292
 L-Gulonato, 230
 Gulosa, 64
 Günther, porfiria, 532

H

H^+
 concepto de pH, 34
 efecto sobre glicólisis, 234-235
 Haber-Weiss, reacción, 218
 Hae III, 404
 Haldane, efecto, 524, 526
 Hapteno, 542
 Haptoglobinas, 532
 Harris y Benedict, fórmulas, 174
 Hartnup, enfermedad, 178
 Haworth, estructuras, 65
 Hebra
 guía, 333
 retrasada, 333
 Helicasa, 332
 Hélice
 alfa, 101-102
 giro-hélice, 394
 bucle-hélice, 394
 Heloma, 629
 Hematina, 532
 Hemiacetal, 65
 Hemo, 522, 529
 Hemodiálisis, 43
 Hemofilia, 537
 Hemoglobina 522-525
 A, 322
 A, A_{1c}, A₂, 522
 B, 528
 C, 528
 cooperatividad de Bart, 529
 E, 528
 evolución genética, 526
 F, 322, 522
 fetal, persistencia, 529
 H, 529
 M, 528
 S, 527
 Hemoglobinopatías, 434, 527-528
 Hemólisis, 41
 Hemooxigenasa, 532
 Hemopexina, 521, 532
 Hemostasia, 534
 Henderson-Hasselbalch, ecuación, 36, 94
 Heparán sulfato, 622
 Heparina, 354, 536, 622
 Hers, glucogenosis de, 243
 Heterocromatina, 321
 Heteroplasmia, 438
 Heteropolisacáridos, 62, 70
 Heterotrópicas, interacciones, 152
 Hexoquinasa, 52, 134, 225, 226, 234, 307
 Hexosa(s), 64
 fosfato isomerasa, 307
 Hialadherinas, 624
 Hialuronidasas, 627, 661
 Hibridación, 404
 sp³, 63

- Hidratos de carbono
absorción intestinal, 181
clasificación, 62
determinación, 61
funciones materiales, 173
metabolismo, 223-247
rendimiento energético, 173, 228
- Hidrolasas, 136
lisosomales, 461
- L(+)-β-HidroxiacilCoA deshidrogenasa, 257
- Hidroperoxiácidos, 80
- Hidroxiapatito, 641
en esmalte, 647
solubilidad, 645
- β-Hidroxibutirato deshidrogenasa, 260
- Hidroxilasa renal, 638-639
- Hidroxilisina, 617
- Hidroxilisinal, 617
- β-HidroximetilglutarilCoA liasa, 260
reductasa, 268
sintetasa, 260
- Hidroxiprolina, 93, 614
- Hígado, perfil metabólico, 304-305
- Hill, ecuación, 523
- Hiperaldosteronismo, 44
- Hiperammonemia, 283
- Hiperargininemia, 283
- Hiperbilirrubinemia, 533
- Hipercolesterolemia familiar, 270
- Hiperfenilalaninemia, 288
- Hiperglicinemia no cetósica, 289
- Hiperpolarización, 584
- Hiperqueratosis, 629
- Hipervitaminosis, 142
- Hipoaldosteronismo, 44
- Hipoplasias, 645
- Hipoproteinemia, 520
- Hipoprotrombinemia, 537
- Hipótesis del balanceo, 365
- Hipovitaminosis, 142
- Hipoxantina, 292
guanina fosforribosiltransferasa, 293
- Hippel-Lindau, gen supresor tumoral, 353
- Histamina, 290, 590, 592
- Histatinas, 655
- Histidina, 92, 290
metabolismo, 284
- Histonas, 99, 126
acetilación, 388
desacetilación, 388
- HMWK, 534, 537
- Hodgkin, Katz y Goldman, ecuación, 583
- Hogness, caja de, 352
- Hoja plegada β, 101
- Holoenzima, 138
- Homeostasis, 191
- Homo sapiens*, 420
- Homocisteína, 93, 286
- Homocistinuria, 286
- Homogentísico oxidasa, 288
- Homopolisacáridos, 62, 69
- Homoserina, 93, 286
- Homotrópicas, interacciones, 152
- Hormona, 191, 592
antidiurética, 574
características generales, 191-194
clasificación, 194
del crecimiento, 574, 680
dianas metabólicas, 194
en ejercicio, 573-575
y envejecimiento, 680
esteroides, 269, 389
estimulante(s), 195
tiroideas, 196
- Inhibitorias, 195
- lipogénas, 254
- lipolíticas, 254, 308
- sexuales, 86
- tiroideas, 574
- trópicas, 195
- Horquillas
de ARN, 128
de replicación, 333
- HRE (véase Elementos de respuesta a hormonas)
- Huella de ADN, 323
- Hueso, composición, 640, 644
- Huntingtina, 436
- Huntington, enfermedad, 438
- I**
- Ictericia, 533
fisiológica del recién nacido, 534
- Idosa, 64
- α-Iduronidasa, 625
- IgA, 543
secretora, 544
- IgD, 543
- IgE, 543
- IgG, 543
- IGF, 310
- IgM, 544
- Iminoácidos, 92
- IMP, 292
biosíntesis, 294
deshidrogenasa, 294
- Impronta génica, 324, 438
- Inactivación del cromosoma X, 437
- Índice de yodo, 79
- Indolaminas, 590
- Inductor, 383
- Información genética, flujo, 319
- Inhibición
de la cadena respiratoria, 213
por contacto, 502
enzimática
acompetitiva, 149
competitiva, 148

- irreversible, 148, 150
no competitiva, 148
reversible, 148
genética selectiva (*knockout*), 340, 440
de la replicación de ADN, 336, 344
de la síntesis
 de la pared bacteriana, 150
 de proteínas, 372
 de la transcripción, 351, 354
Inhibidor
 de CDK, 470
 de tripsina, 181
INK4A-ARF, 473
Inmortalidad celular, 503
Inmunoglobulinas, 542
 cadenas
 ligeras, κ , λ , 543
 pesadas, 543
 clases, 543
 diversidad de unión, 546
genes en células germinales, 544
reagrupamiento genético, 392
recombinación
 genética, 342
 intracromosómica, 544
regiones
 constantes, 543
 variables, 543
Inmuquímica, 545
Inosina, 292
Inosinato deshidrogenasa, 294
Inositol, 78
 1,4,5-trifosfato, 199
Inserción, 432, 436
Insertos, 402
Insolubilización por salado, 108
Insulina, 61, 197, 234-237, 308, 555
 síntesis, 376
Integración
 en caso de
 déficit de nutrientes, 307
 de señales nerviosas, 588
 exceso de nutrientes, 308
 metabólica, 303
Integrinas, 477, 626
Intensificador, 352
Interacción
 catión- π , 105
 codón-anticodón, 365
Interferencia por ARN, 395
Interferón, 494
Interleuquinas, 474
Intolerancia hereditaria a la fructosa, 226
Intron, 320, 356
Involucrina, 627
Iones, 43-44, 65
 en saliva, 654
Ionóforos, 166
Irreversibles, procesos, 51
Islotes CG, 388, 434
Isocitrato, 207
 deshidrogenasa, 206, 209
 liasi, 208
Isodesmosina, 93, 621
Isoenzimas, 134, 234
Isoleucina, 92
 catabolismo, 285, 286
Isomaltasa, digestiva, 179
Isomerasas, 136
Isómeros ópticos, 63
Isopreno, 83
Isoprenoides, 84, 184
- K**
- Katal, 143
King y Altman, representación, 146
Kleinberg, teoría, 660
Koshland-Neet, modelo, 135
Koshland-Nemethy y Filmer, modelo, 152
Kozak, secuencia, 370
Krebs, ciclo, 206-209
Kwashiorkor, 521
- L**
- Lactasa, 179, 181
Lactato deshidrogenasa, 49, 140, 225, 234, 668, 669
Lactosa, 69, 179, 226, 384
 inductor del operón, 383
Lambert-Beer, ley, 667
Lámina β (véase Hoja plegada β)
Laminina, 619
Lanosterol, 268
Lanzadera mitocondrial, 214
 del glicerofosfato, 215
 del malato, 215
Latirismo, 620
Laxitudes ligamentosas, 620
Leber, enfermedad, 214, 437
Lecitina, 81
 colesterol aciltransferasa, 250-252
Lectinas, 454
Lectinoma, 62
Leucemia, 521
 mieloide aguda, 353
Leucina, 92
 aminopeptidasa, 177
 catabolismo, 284, 285
Leucotrienos, 80
Levano(s),
 en placa dental, 656
 sacarasa, 656
Levógiro, 64
LHRH, 590
Liasas, 136
Liberación de vesículas, 589
Liberinas, 196

- Ligandinas, 533
 Ligasas, 136
 Línea
 M de miofibrillas, 512
 Z de miofibrillas, 512
 Lineweaver-Burk, representación, 147
 Linfocitos T, 550
 citotóxicos, 551
 cooperadores, 551
 Linfoma, 501
 Lipasa pancreática, 180
 Lípidos, 75
 absorción intestinal, 183
 clasificación, 75
 isoprenoides, 75
 de membrana, 159-160
 metabolismo, 250
 rendimiento energético, 173
 Lipidosis, 267
 Lipofeción, 438
 Lipólisis, 254
 Lipopolisacáridos, 75
 Lipoproteína, 75
 clasificación, 249, 253
 estructura, 249, 253
 HDL, 249, 253
 IDL, 249, 253
 LDL, 249, 253, 270
 lipasa, 183, 250
 niveles circulantes, 252
 VLDL, 249-253
 Lisil oxidasa, 614, 617
 Lisina, 92, 617
 hidroxilasa, 614, 617
 Lisinal, 93, 615, 617
 Lisolecitinas, 82
 Lisozima, 623, 656
 Lixosa, 64
 Llave y cerradura, modelo, 134
 Longevidad, 674
- M**
- McArdle, glucogenosis, 243
 Macroevolución, 692
 Macrófagos, 532, 550
 Macroglobulina, 581
 α_2 -macroglobulina, (α_2 -Mc), 597
 Macromoléculas, 24
 Malato deshidrogenasa, 209, 215
 sintasa, 208
 MALDI, 424, 748
 TOF, 748
 Malformaciones congénitas, 394
 MalonilCoA, 262
 PTA transacilasa, 262-263
 Maltosa, 3178-179
 Maltotriosa, 178-179
 Mananos, 68
 Manitol, 66
 Manosa, 64
 6-fosfato, 461
 MAPK, 472
 Marasmo, 521
 Maratón, 525
 Marcadores
 ETS, 420
 STS, 420
 tumorales, 505
 Margarinas, 79
 Maxam-Gilbert, secuenciación de ADN, 410
 Mdm2, 473
 Melanina, 288, 629
 Melanocitos, 476, 628
 Melanoma, 630
 Melanosomas, 629
 Melanotropina (*véase* MSH)
 Melatonina, 680
 Membrana tilacoide, 211
 Meromiosina, 512
 Metabolismo, 49
 basal, 174
 economía nitrogenada diaria en humanos, 276
 Metahemoglobina, 522
 Metalochaperonas, 465
 Metaloproteasas de la matriz, 624
 Metarrodopsina II, 604
 Metástasis, 501-502, 509
 Metilación de genes, 388, 488
 Metionina, 92
 metabolismo, 286
 Métodos
 cinéticos, 669
 de punto final, 668
 virales de introducción de ácidos nucleicos, 439, 495
 Metotrexato, 299, 393
 Mevalonato, 268
 MHC (*véase* Complejo mayor de histocompatibilidad)
 Miastenia grave, 595
 Micelas y absorción de lípidos, 182
 Michaelis-Menten, ecuación, 145
 Microfibrillas, 628
 Microfilamentos, 566
 Microfósiles, 690
 Microglía, 581
 β_2 -Microglobulina, (β_2 -mc), 505
 Microinyección pronuclear, 440
 Micromatrices de ADN, 423
 Microsatélites, 323
 Microtúbulos, 567
 Mielina, 582
 Mieloblastosis aviar, 422
 Mielocitomatosis aviar, 422
 Mieloperoxidasa, 656
 Mineralización, 637, 644
 Minisatélites, 323
 Miofibrillas, 561
 Mioglobina, 524
 Miosina, 562
 quinasa, 576

Mitógenos, 470-473
 Mitomicina C, 336
 Modificaciones postraduccionales, 375, 392
 Molalidad, 33
 Molaridad, 33
 Moléculas,
 ortólogas, 693
 parálogas, 693
 Moneda energética, 52
 Monooxigenasas, 218
 Monosacáridos, 62
 Monóxido de carbono, 136, 213, 525, 533
 Morfina, 230
 Morfógenos, 475
 Motivos estructurales, 104
 MPTP, 596
 MSH, 98, 590
 Mucinas, 623, 654
 Mucolipidosis, 625
 Mucopolisacáridos, 621, 622
 Mucopolisacardosis, 621, 625
 Muerte celular programada, 478
 Mureína, 623
Mus musculus, 419
 Muscarina, 594
 Músculo, 561
 perfil metabólico, 306
 Mutación
 dinámica, 436
 génica, 338, 432
 puntual, 338, 433
 silenciosa, 338
 Mutagénesis de inserción, 507
 Mutanos, en placa dental, 656
 Mutarrotación, 65

N

NAD(P)⁺, NAD(P)H, 205, 215, 225
 espectros de absorción, 668, 669
 estructuras, 139
 NADH-ubiquinona oxidoreductasa, 209
 Necrosis, 478
 Neofuncionalización, 692
 Neoplasia, 501
 NER, 340
 Nernst, ecuación, 51, 583
 Neostigmina, 595
 Neurohormona, 592
 Neuromodulador, 591
 Neurona, 581
 bipolar, 599
 ganglionar, 599
 Neuropatía óptica hereditaria, 437
 Neurotensina, 590
 Neurotransmisor, 589-590
 Nexina, 568
 NGF, 476-477
 Niacina, 141, 288

Nicotina, 595
 Nicotinamida, 139, 140, 227
 Ninhidrina, 96
 Nitrógeno,
 balance, 91
 fijación, 275
 Nitrogenasa, 275
 Nitrosoureas, 336
 Noradrenalina, 288, 592
 Normalidad, 33
 Nucleasas, 331
 Nucleosidasas, 368
 Nucleósido, 117, 205
 difosfato reductasa, 293
 fosforilasa, 293
 quinasa, 293
 Nucleosoma, 127
 Nucleotidasas, 293
 Nucleótidos, 118
 metabolismo
 pirimidínicos, 295-298
 purínicos, 293-295
 Número de recambio, 138
 Nutrientes
 absorción, 173
 digestión, 176
 esenciales, 163, 183
 funciones catalíticas, 175, 183

O

Obesidad, 265-266
 Octámero de histonas, 127
 OctanoilCoA carnitina transferasa, 260
 ODF, 640
 Odontoblastos, 637, 646
 Odontocitos, 637, 646
 Okazaki, fragmentos de, 333
 Oleínas, 79
 Oligoadenilato sintetasa, 303
 Oligodendrocitos, 581
 Oligoelementos, 19
 Oligofrenia feniiltruvíca, 288
 Oligonucleótidos, 414
 específicos de alelo, 413
 Oligopéptidos, 97
 Oligosacáridos, 62
 N-, 458, 461
 O-, 458
 Oligosacaridosis, 625
 Oligosacaridasas, 178-179
 Oncogenes, 130, 201, 502, 506, 508
 mecanismos de acción, 506, 508
 de retrovirus, 492
 Oncoproteínas, 502, 506, 508
 Onicólisis, 629
 Onicomadesis, 629
 Operador, 383

- Operón, 382
 lac, 382-383
 S10, 385
 Trp, 384
 Opiomelanocortina, 98
 Opsina, 602-603
 ORF (*véase* Pauta de lectura)
 Ori C, 332
 Origen de replicación, 332
 Ornitina, 93, 282
 carbamilo transferasa, 284
 descarboxilasa, 290, 393
 transcarbamila, 282
 Orotato fosforribosiltransferasa, 297
 Osmolaridad, 41
 Ósmosis, 40
 Osteoblastos, 613, 637
 Osteocalcina, 644
 Osteoclastos, 638, 647
 Osteogénesis imperfecta, 619
 Osteólisis artropática nodular, 624
 Osteonectina, 644
 Osteopontina, 644
 Osteoprotegerina, 640
 Ouabaína, 68
 Ovillos neurofibrilares, 597
 Oxidasa del ácido dihidroxiindolcarboxílico, 629
 Oxidorreductasas, 136
 Oxigenasa, 218
 Oxígeno
 singlete, 218
 transporte por la sangre, 525
 Oxihemoglobina, 522
 Oxitocina, 98, 196, 590
- P**
- p16, 473, 508-509
 p21, 508-509
 p53, 341, 473, 474, 508-509, 683
 p700, 277
 Palmitoilo
 CoA, 263
 carnitina transferasa, 256
 Pancreatitis aguda, 181
 Papaína, acción sobre inmunoglobulinas, 542
 Paquioniquia, 629
 Paracrina, acción, 191-192
 Parahemofilia, 537
 Parathormona, 639
 PARP, 681, 682 (*véase* Poli(ADP-Ribosa) polimerasa)
 Partícula de reconocimiento de la señal, 451
 ciclo, 452
 Pasteur efecto, 504
 Pauta de lectura, 363
 PCR, 411-414
 aplicaciones biomédicas, 413
 detección de mutaciones, 413
 y SIDA, 671
- Pelagra, 143
 Penicilina, 150
 Pentosas, 64
 fosforiladas, ruta, 223, 229-230
 Pepsina, 108, 177, 178
 acción sobre inmunoglobulinas, 542
 Pepsinógeno, 177, 178
 Peptidilprolil isomerasas, 454
 Peptidiltransferasas, 367
 Péptido(s), 97
 amiloide, 597-598
 intestinal vasoactivo (*véase* VIP)
 neuroactivos, 592
 opiáceos, 592
 señal, 451
 Peptidoglicanos, 623
 Período anaerobio aláctico, 573
 Periodonto, enfermedades, 660
 Perlecano, 619, 622
 Permeasas mitocondriales, 214
 Peroxidasa, 259, 656
 en saliva, 656
 pH, 34, 95
 pI, 95
 Pie diabético, 310
 Piel, 627
 Piranósido, estructura, 65
 Piridoxal, 139, 140, 141
 Piridoxamina, 141
 Piridoxina, 141
 Pirimidínicas, bases, 117
 Pirofosfato, 645
 de tiamina, 139, 141
 Pirroles, 529
 Pirrolquinolina quinona, 142
 Pirrolisina, 93
 Piruvato
 carboxilasa, 206, 231, 236
 deshidrogenasa, 210, 227, 228, 235, 307, 308
 formato liasa, 658-659
 quinasa, 225, 234
 pK, 34, 95
 Placa
 dental, 653
 cariógena, 660
 composición, 657
 litógena, 660
 senil, 597
 subgingival, 661
 supragingival, 661
 Plásmido, 334, 407
 Plasmina, 536
 Plasminógeno, 536
 activador tisular, 536
 Plasmólisis, 41
 Plastocianina, 212
 Plastoquinonas, 212
 Plegamiento, 455
 Pleitrópico, 474
 Poli(A), cola, 356, 373

- Poli(ADP-Ribosa) polimerasa, 478, 479
 Poliaminas, 96, 290
 Policistrónico, 370
 Polinucleótidos, 119
 Polipéptidos, 97
 Poliprenilquinonas, 84
 Poliproteínas, síntesis, 392, 490
 Polirribosomas, 367, 369
 Polisacáridos, 62, 69
 POMC, 98, 392
 Pompe, glucogenosis, 243
 Porfiria, 530
 aguda intermitente, 532
 cutánea tardía, 532
 jaspeada, variegata, 532
 Porfirinas, 529-530
 Porfirinurias, 530
 Porfobilinógeno, 529
 Porinas, 214
 Postranscripción del ARN, 354-357
 Potencia máxima aerobia, 570
 Potencial
 de acción, 584
 de equilibrio, 583
 de placa terminal, 594
 químico, 211, 583
 redox, 52
 de reposo, 583, 584
 ppGpp, 385
 Precalcreína, 534, 537
 Predentina, 637
 Presión
 oncótica, 42
 osmótica, 40
 Pribnow, caja, 350
 Primasa, 333
 Prion, 104
 Procaína, 594
 Procesamiento alternativo, 389
 Procolágeno, 614
 Proconvertasas, 465
 Producto
 iónico del agua, 34
 de solubilidad, 645
 Proelastasa, 178
 Proelastina, 620
 Proenzima, 148, 154, 176, 177, 479
 Progesterona, 86, 196
 Prolactina, 196
 regulación de la síntesis de caseína, 391
 Prolaminas, 99
 Proliferación celular, 469
 Prolína, 92, 107, 614
 catabolismo, 284
 hidroxilasa, 614
 Promotor, 350, 352, 353
 Propiomelanocortina, 98, 392
 Proproteína, 464
 Prostaciclinas, 79
 Prostaglandinas, 79
 Protaminas, 99
 Proteasas, 177, 276
 Proteasomas, 277, 683
 Proteína(s), 98
 ácidas, en tejidos calcificados, 644
 activadoras, 280
 adaptadora, 471
 conjugadas, 98
 constitutivas, 381
 desacoplantes de fosforilación oxidativa, 214, 266
 desnaturalización, 109
 digestión, 177
 estructura, 99
 cuaternaria, 104
 hélice α , 101
 hoja plegada β , 101
 nativa, 99
 primaria, 100
 secundaria, 101
 terciaria, 103
 de fase aguda, 520
 fibrosas, 99
 fos, 394
 fosfatases, 153, 243, 255, 606
 I, 242-243
 G_{olf}, 596
 globulares, 99
 Grb2, 472
 intrínsecas de membrana, 161
 jun, 394
 de membrana, 109, 161-162
 morfógenas óseas (véase BMP)
 mSos, 472
 plasmáticas, 519-521
 quinasa
 A, 197-198, 234, 242, 254, 389, 473
 activada por mitógeno (véase MAPK)
 C, 199, 473
 CaM, 199, 242, 593
 dependiente de ciclina, 337, 469-471
 G, 195, 197, 596
 MAP, 328, 472, 508
 MAPK, 328, 472, 508
 R_b, 470, 471
 rab3, 593
 Raf, 472
 Ras, (véase p21), 457, 472
 relacionada con la PTH, 640
 rendimiento energético, 173
 represoras, 381
 reserva energética, 519
 ribosomales, 366, 385
 rim, 593
 ro, 350
 sensora de Ca²⁺, 607
 simples, 98
 tardías, virales, 488
 tau, 597
 TBP, 353
 tempranas, virales, 488

- transportadora
de acilos (PTA), 262-263
de calcio, 638
de retinol, 602
- Proteinograma, 520
- Proteoglicanos, 70, 613, 622
en tejidos calcificados, 644
- Proteólisis intracelular, 276
- Proteoma, 420, 745
- Proteómica, 424, 745
clínica, 673
- Protofibrilla, 628
- Protofilamento, 628
- Protógeno I, III, 530
oxidasa, 530
- Protooncogenes, 201, 501, 506
- Protoporfiria eritropoyética, 532
- Protoporfirina, 529-530
- Protoporfirinógeno oxidasa, 529
- Protrombina, 535
- Provirus, 488
- Proyecto Genoma Humano, 420
- Pseudogenes, 321
- Pst I*, 404
- Ptialina (véase α -amilasa)
- Puentes
disulfuro, 453
de hidrógeno
en el agua, 30
intercatenarios, 101
intracatenarios, 101
- Punto isoeléctrico (véase pI)
- Purínicas, bases, 117, 292
nucleótidos, 592
- Puromicina, 372
- Putrescina, 96, 290, 659
- Q**
- Queratán sulfato, 622
- Queratinas, 106, 628
- Queratinocitos, 627
- Queratohialinas, 629
- Quilomicrones, 182, 249-253
remanentes, 250
- Quimioterapia, antiviral, 494
- Quimioquinas, 474
- Quimotripsina, 178, 464
- Quimotripsinógeno, 178
- Quinasa de la cadena ligera de miosina, 515
- Quinoma, 200
- Quiralidad, 63
- Quitina, 70
- R**
- Radiación UV, 120, 338
- Radical(es)
hidroxilo, 218
libres oxigenados, 217-218
- Radioinmunoanálisis, 670, 672
- Ranvier, nódulos, 582, 588
- Raquítismo, 85, 638
- Ratones transgénicos, 440
- Reacción
antígeno-anticuerpo, 545
en cadena de la polimerasa (véase PCR)
- Reacciones anapleróticas, 206
- Reagrupamiento de genes, en eucariotas, 392
- Receptopatías, 194
- Receptor(es)
CD4 de linfocitos T, 552-554
esteroides, 199, 389
gustativos, 595
hormonales, 191-193, 388
de insulina, 192
intracelulares, 199
kit, 914, 476
de linfocitos T (TcR), 552
de muerte celular, 480
muscarínico, 594
de neurotransmisores, 592
neuroactivos, 592
nicotínico, 594
olfativos, 596
presinápticos, 592
táctiles, 595
tiroideos, 199, 388
visuales, 599
- Recodificación traduccional, 364
- Recombinación del ADN, 341-343, 407
- Recoverina, 607
- Redox
potenciales, 51
sistemas, 51
- Región señal, 450
- Regulación
equilibrio hídrico, 574
de la expresión genética, 381-395
metabólica, 303-304
neuroendocrina, 193, 196
- Regulón, 384
- Remodelado de la cromatina, 388
- Renaturalización, 110
- Renina, 574
- Reovirus, replicación, 490
- Reparación
de ADN, 338-340
apareamientos incorrectos, 340-341
- Replicación
del ADN, 330-337
del genoma viral, 488
- Replicasa de ARN, 489
- Replicón, 335
- Replisoma, 332
- Repolarización, periodo, 585
- Represor, 381
lac, 383
- Reservas energéticas corporales, 568
- Resistencia aerobia, 522

- Resonancia magnética nuclear, 748
 Respuesta inmunitaria, 541, 549
 celular, 549
 humoral, 549
 Retículo
 endoplásmico, 199, 250, 266, 367, 449, 451
 rugoso, 367
 sarcoplásmico, 561, 562
 Retina, 599
 Retinal
 11-cis, 601
 todo-trans, 601
 Retinitis pigmentosa, 608
 Retinol(es), 84
 deshidrogenasa, 601
 Retroalimentación, 152
 Retrovirus, 490
 replicación, 491
 vectores de transferencia, 495
 Ribitol, 66
 Ribonucleótidos, 386
 Riboflavina (véase Vitamina B₁)
 Ribonucleótido reductasa, 298
 Ribosa, 64
 5-fosfato, 229, 230, 239
 Ribosomas
 eucariotas, 367, 370
 procariotas, 368, 370
 en la traducción, 364, 366
 Ribozimas, 128
 Ribulosa, 64
 1,5-bisfosfato carboxilasa (Rubisco), 239
 5-fosfato, 229-230
 Rifamicinas, 354
 Rifampicina, 354
Rigor mortis, 565
 RISC, 395
 Rodopsina, 602
 fotoexcitación, 603-604
 metabolismo, 604
 quinasa, 605, 606
 ROS, 217-218, 338, 679, 681, 683
 Rotenona, 213
 Rous, sarcoma, 492
 RT-PCR (retro-PCR), 413
 Rubisco (véase ribulosa 1,5-bisfosfato carboxilasa)
 Ruta
 biosintética secretora, 449, 451
 de las pentosas fosforiladas, 229-230
- S**
- Sacarasa, 180
 Sacáridos, 61
 Sacarosa, 69, 180
 metabolismo, 226
Saccharomyces cerevisiae, 419
 Saliva, 653
 Sanger, secuenciación de ADN, 319-320
 Saponificación, 79
 Sarcolema, 561
 Sarcomas, 492, 501
 Sarcómero, 561-563
 Sarcoplasma, 561
 Sarcosoma, 561
 Sarro, 661
 Saxitoxina, 585
 Schwann, células, 581
 Secreción constitutiva, 464
 regulada, 464
 Secretasas, 598
 Secretina, 191
 Secuenciación
 de ADN, 410, 420
 de genes, 410
 jerárquica, 420
 shotgun, 420
 Secuencias
 Alu, 323
 CAAT, 352
 camaleónicas, 103
 CG, 352
 consenso, 350
 diana en el ADN, 402
 intensificadoras, 352
 KDEL, 454
 LINE, 323
 no traducidas, 320
 octámero, 352
 palindrómicas, 402
 PEST, 278
 señal, 273, 450, 461
 silenciadoras, 354
 SINE, 323
 supresoras, 354
 TATA, 350, 352
 VNTR, 323
 Sedoheptulosa-7-fosfato, 229
 Segundos mensajeros, 193
 Selenocisteína, 93, 364
 Semialdehído glutámico, 284
 Senescencia celular, 473
 Señales de poliadenilación, 356
 Serina, 92
 familia biosintética, 291
 metabolismo, 286, 289
 Serotonina, 592
 síntesis, 290
 Serpinas, 536
 Shine-Dalgamo, secuencia, 367
 Sialoproteínas, 644
 SIDA, 299, 492, 555, 671
 Sigma, subunidad, 349
 Silenciamiento de ARN, 395
 Sinapsina, 593
 Sinapsis, 581, 589
 excitatoria, 590
 inhibitoria, 590

- Sinaptotagminas, 593
 Síndrome
 de Angelman, 438
 de Bassen-Kornzweig, 608
 de Bloom, 343
 de los cilios inmóviles, 568
 de Cockayne, 343, 353
 de Conn, 44
 de Criggler-Najjar, 533
 del cutis laxo, 621
 disneico agudo, 81
 de Down, 436-437
 de Ehlers-Danlos, 619-620
 de feminización testicular, 394
 de Fitzgerald, 537
 de Fletcher, 537
 de Hageman, 537
 de hidropesía fetal, 529
 de Hunter, 625
 de Hurler, 625
 de Kartagener, 568
 de Lambert-Eaton, 595
 de Lesch-Nyhan, 293, 442
 de Li-Fraumeni, 509
 de Lynch, 343
 de Marfan, 621
 de Maroteaux-Lamy, 625
 de Menkes, 465
 de Morquio, 625
 de Prader-Willi, 438
 de Reifenstein, 394
 del restaurante chino, 183
 de San Filippo, 625
 de Scheie, 625
 de Sjöndren, 653
 de Sly, 625
 de Waardenburg, 194
 de Wilson, 465
 Sintasa de ácidos grasos, 262
 Sirtuinas, 683
 Sistema
 AB0, 463
 complemento, 547
 endocrino, 191
 energéticamente acoplado, 52
 neuroendocrino y envejecimiento, 679
 nervioso
 autónomo, 581
 central, 581
 periférico, 581, 582
 Sitio
 hipermutables, 434
 en la traducción
 A, 367
 E, 367
 P, 367
 SNP, 422
 Sobresaturación, 30
 Solubilización por salado de proteínas, 108
 Solvatación, 31
 Somatoliberina, 196
 Somatomedinas, 196
 Somatostatina, 196
 sondas
 de ADN, 404
 genéticas, 402
 Sorbitol, 66
Splicing, 356
 Src, 477
 Stephan, curva, 660
 STR, 323
Streptococcus
 mutans, 656, 658, 660, 662
 salivaris, 656
 sanguis, 656
 Subfuncionalización, 693
 Succinato
 deshidrogenasa, 205, 207, 210
 ubiquinona oxidoreductasa, 209, 210
 SuccinilCoA, 207
 sintetasa (ligasa), 205
 Succinilcolina, 595
 Sulfátidos, 83
 Sulfonilureas, 587
 Sulfoproteína, 210
 Sulfotransferasas, 624
 Suministro energético, en ejercicios, 571
 Superóxido, 218
 dismutasa, 218, 681
 Sustituciones de bases, 432
 Sustancias asfixiantes, 213
 Synucleína, 596
- T**
- TAG lipasa, 574
 Talasemias, 435, 528-529
 Talosa, 64
 Taquinininas, 590
 Taurina, 86, 91, 269, 590
 Tautomería ceto-enólica, 117
 Tay-Sachs, enfermedad, 267
 Técnicas inmunoquímicas, 669, 671
 Tejido
 adiposo
 blanco, 266
 pardo, 213, 214, 266
 perfil metabólico, 305
 calcificado, 637
 cartilaginoso, 626
 conectivo, 613
 osteoides, 637
 Telomerasa, 336, 473
 Telómeros, 321, 336
 Tenascina, 626
 Tensioactivo pulmonar, 81
 Tensión superficial, 31

- Teofilina, 197
 Teoría quimiosmótica, 211
 Terapia génica, 438-442
 ex vivo, 440
 in vivo, 441
 modificación de virus para, 495
 Termodinámica, principios, 49-53
 Termogenina, 214
 Terpenos, 84
 Tertiapina, 587
 Testosterona, 86, 574
 Tetraacáína, 594
 Tetraetilamonio, 586
 Tetrahidrobioptерина, 288
 Tetrahidrofolato, 140, 141, 286, 287
 Tetrahidrol, 30
 Tetrodotoxina, 585
 Tetrosas, 64
 TGF- β , 470, 624
 Tiaforasa, 260
 Tiamina (*véase* Vitamina B₂)
 pirofosfato, 287
 Tiazofurina, 299
 Timidina, 119
 Timina, 118
 dímeros, 338-340
 Tiolas, 260, 261
 Tiorredoxina, 298
 reductasa, 298
 Tiroglobulina, 93, 505
 Tiroliberina, 196
 Tirosina, 92
 catabolismo, 287-288
 fosforilación, 472, 508
 quinasa, 472, 508
 Tirosinasa, 288, 629, 630
 Tiroxina, 93, 196, 213
 TMP, 292
 biosíntesis, 298
 Tocoferoles, 84
 Tonicidad, 41
 Topoisomerasas, 331-332
 Totipotencialidad, 469
 Toxina diftérica, 372
 TRADD, 480
 Traducción, 362-372
 control, 372-374
 en eucariotas, 269-279
 inhibidores, 372
 en mitocondrias, 367
 modificaciones postraduccionales, 375
 en procariotas, 364-367
 Transaminasas (*véase* Aminotransferasas)
 Transcripción
 en eucariotas, 351
 control, 388
 inhibidores, 354
 en procariotas, 349
 control, 381
 Transcriptasa inversa, 336, 407, 413, 490
 Transcriptoma, 420
 Transcrito primario, 350
 Transducción, 488
 de señales visuales, 605
 Transducina, 604
 Transfección, 438
 Transferasa(s), 136
 terminal, 407
 Transferencia
 evolución, 692
 horizontal, 423
 Northern, 405
 Southern, 404
 vertical, 423
 Western, 398, 484, 485, 487, 670, 671
 Transferrina, 521
 Transgén, 439
 Transglicosilasas, 624
 Transición, 432
 Translocación
 cromosómica, 437
 de proteínas, 449, 451
 Translocón, 452
 Transmisión colinérgica, 594
 Transpeptidasas, 150
 Transportadores, móviles, 166
 Transporte, 162
 biporte, 164
 por difusión, 163
 electrógeno, 164
 de glucosa, 165
 interorganular, 457
 de cobre, 465
 inverso de colesterol, 253
 mediado
 activo, 164
 secundario, 164
 pasivo, 163
 mitocondrial
 adenilato, 215
 dicarboxílico, 215
 fosfato, 215
 glutamato/aspartato, 215
 monocarboxilato, 215
 tricarboxilato, 215
 simporte, 164
 azúcar-H⁺, 658
 uniporte, 164
 Transposones, 341
 Transversión, 432
 Traumatismos, 310
 ACTH, 310
 cortisol, 310
 respuestas metabólicas, 310
 Treonina, 92
 metabolismo, 288
 Treosa, 64
 TRH, 590
 Triacilglicéridos (TAG), 78
 biosíntesis, 264

fosfatasa, 255
 lipasa, 255
 reserva energética, 174, 254
Triosas, 64
 fosfato
 deshidrogenasa, 225
 isomerasa, 225
Triplete
 de iniciación, 363
 de terminación, 363
Tripsina, 177, 464
Tripsinógeno, 177
Triptófano, 92
 metabolismo, 178, 288
Trisomía 21, 436
Trombina, 535
Trombomodulina, 536
Tromboxanos, 80
Tropismo viral, 485
Tropocolágeno, 107, 614
Tropomiosina, 562
Troponina, 562
Tubulina, 567
Tulfelina, 644
Tyndall, efecto, 41

U

Ubiquinona, 210
 citocromo c oxidoreductasa, 209-210
Ubiquitina, proteólisis intracelular, 277
UDP-galactosa (UDPGal), 226
UDP-galacturonato, 230
UDP-glucosa (UDPG), 226
 4-epimerasa, 226
 pirofosforilasa, 241
UDP-glucuronato, 230, 533
UDP-glucuronil transferasa, 230, 533
UDP-iduronato, 230
Ultracentrifugación, 747
UMP, 119, 292-295
Unidad de transcripción, 349
Uñas, 67
 en garra, 629
Uracilo, 118, 292
Urea, 281,
 ciclo, 281-283
Ureasa, 133
 de microorganismos bucales, 659
Uridina, 119, 292
Urobilina, 533
Urobilinógeno, 533
Urógeno I, III, 529
 cosintasa, 529
 descarboxilasa, 530
 sintasa, 533
Uroquinasa, 537, 673

V

Valina, 92
 catabolismo, 285
Valinomicina, 166
Van't Hoff, ecuación, 40
Vasopresina, 98, 196, 590
Vector
 de ADN, 407
 BAC, 407, 420
 de clonación, 407
 de expresión, 407
 YAC, 407
Veillonella, 659
Vesículas
 de transferencia, 463
 sinápticas, 589
Vía
 del fosfogluconato, 229-230
 de las pentosas fosforiladas, 229-230
 de recuperación de nucleótidos, 293
 en los virus
 lisogénica, 488
 lítica, 488
Vida, origen, 690, 692
VIH (véase SIDA)
Vinculina, 503
VIP, 590
Virión, 485
Viroide, 485
Virus, 485-496
 ADN, 488
 ARN, 489
 clasificación, 486
 de estomatitis vesicular, 489
 de la gripe, 489
 del mosaico del tabaco, 485
 oncogénicos, 490
 del polioma, 490
 SV40, 490
 tamaños genómicos, 486
 VIH, 492
Visión, 59, 608
Vitamina(s), 139, 141
 A, 84, 140, 601-602
 B₁, 139, 141, 227
 B₂, 139, 141, 227
 B₃, 227
 B₅, 227
 B₆, 139, 141
 B₁₂, 139, 141, 143
 C, 67, 141, 151, 152, 472, 614
 D, 141, 142, 638, 639
 E, 141,
 hidrosolubles, 141
 K, 84, 141
 liposolubles, 84, 141
Vitílico, 630
VNTR, 323
VO₂ máxima, 573

von Gierke, glucogenosis, 243
von Willebrand enfermedad, 537

W

Warburg, efecto, 504
Watson y Crick, apareamientos tipo, 123
Wynne-Davies, maniobras, 620

X

Xantina, 292
oxidasa, 295, 297
Xantinuria, 297
Xantosina, 292
Xeroderma pigmentosa, 343, 506

Xeroftalmía, 608
Xerostomía, 653
Xilosa, 64
Xilulosa-5-fosfato, 229, 239
XMP, 292, 294

Y

YAC, 407
Yodoacetato, 229

Z

Zimógeno (véase Proenzima)
Zona H, de miofibrillas, 512
Zwitterion, 94

CARACTERÍSTICAS GENERALES

Se han mantenido las principales y más destacables características de las ediciones anteriores y se incluyen numerosas modificaciones necesarias para contar con un texto actualizado, didáctico, ameno de estudiar y con rigor científico y homogeneidad en el conjunto de la obra.

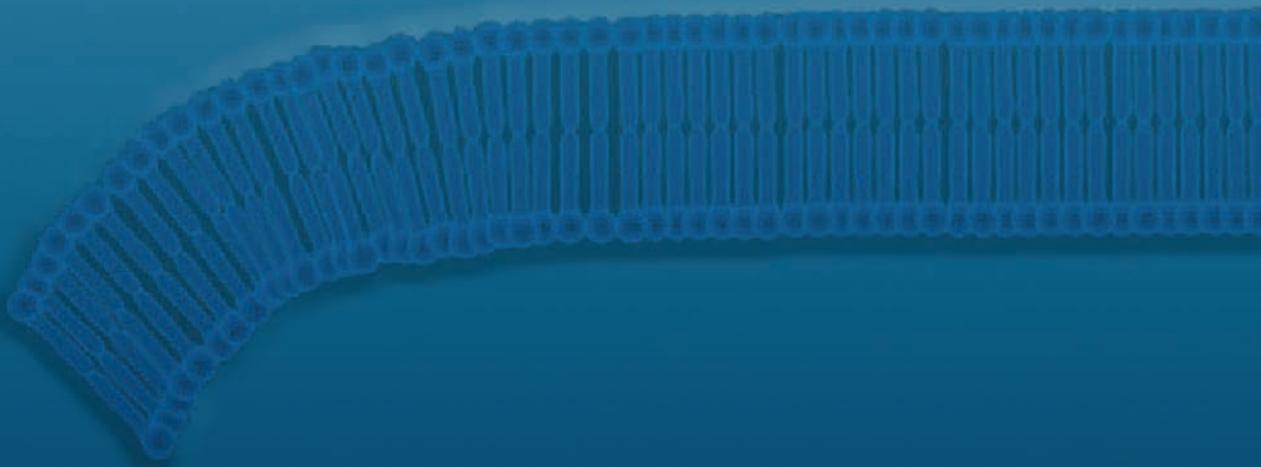
Contenidos revisados y actualizados.

Novedades a destacar de esta edición:

- Ampliación de los capítulos de biología molecular.
- Bloque dedicado a aplicaciones bioquímicas, con capítulos específicos para titulaciones de Odontología, Podología y otras.
- Inclusión de temas novedosos y aspectos que hacen de esta edición un libro moderno, actualizado y fácil de seguir.
- Incorporación de un CD con simulaciones en tres dimensiones de aspectos estructurales, funcionales y metodológicos.
- Un formato mayor que permite una mejora en el material gráfico.
- Distribución del contenido global en tres grandes apartados:
 - I. Bioquímica: estructura y metabolismo
 - II. Biología y patología moleculares
 - III. El nivel molecular en biomedicina
- Nuevo capítulo que trata los orígenes de la Bioquímica y de la Biología molecular y su desarrollo como ciencias específicas, desde el siglo XVIII hasta la actualidad.
- Actualización de las secciones de Información genética y Genoma, patología molecular y terapia génica, de acuerdo con los nuevos conocimientos derivados del desarrollo del Proyecto Genoma Humano, por lo que se añade un nuevo capítulo sobre las aplicaciones del mismo.
- Nueva sección de Biología molecular y celular, en la que se revisan capítulos previamente existentes, como Aspectos moleculares del crecimiento y diferenciación celular o Aspectos moleculares del cáncer, y se reestructura un nuevo capítulo de Modificación posttraduccional y tráfico intracelular de proteínas.
- Al final de cada capítulo, resumen de su contenido y preguntas de autoevaluación.

Capítulos específicos para:

- Nutrición: digestión y absorción de biomoléculas.
- Fenómenos contráctiles. Contracción muscular y actividad física.
- Bioquímica del tejido conjuntivo. Componentes estructurales.
- Las bases moleculares del envejecimiento y la longevidad.
- Origen de la vida y evolución bioquímica.
- Técnicas Instrumentales en Biología molecular y Proteómica.
- Glosario de Bioquímica y Biología molecular nuevo y ampliado.
- Respuestas a las preguntas de autoevaluación.
- Listado de fuentes con ayudas docentes bioquímicas en Internet, que pretende dar un mayor protagonismo a las páginas web existentes en castellano con esta finalidad.



The McGraw-Hill Companies