

CUADERNOS DE DIVULGACIÓN CIENTÍFICA SEBBM
"ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS 2012-2014"

Imagen: Pinacoteca de la Ciencia. "En perfecta conexión". Autores: Alberto M. Hernández Pinto y Ryan Steel (3D Lab - Development, Differentiation & Degeneration, Centro de Investigaciones Biológicas-CSIC).

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. Enero 2012: *Asociaciones funcionales de chaperonas* (Arturo Muga)..... pp. 4-5
2. Enero 2012(2): *Acerca del dolor* (Antonio Ferrer Montiel)..... pp. 6-7
3. Febrero 2012: *Las levaduras también sufren: mecanismos de respuesta a estrés por pH alcalino* (Joaquín Ariño)..... pp. 8-9
4. Marzo 2012: *Receptores de muerte celular: iniciadores de la apoptosis y algo más...*(Abelardo López Rivas)..... pp. 10-11
5. Abril 2012: *La simetría gobierna la reabsorción renal de aminoácidos y nuestras emociones* (Manuel Palacín)..... pp. 12-13
6. Mayo 2012: *Una función celular básica: el trasiego de sustancias a través de sus membranas* (Cecilio Giménez)..... pp. 14-15
7. Junio 2012: *Forma, función y fertilidad de los espermatozoides* (Eduardo Roldán)..... pp. 16-17
8. Julio 2012: *Nuevo papel del tracto gastrointestinal en el desarrollo de enfermedades metabólicas* (Cristina Rondinone)..... pp. 18-19
9. Agosto 2012: *Quimioquinas/receptores, un sistema complejo que regula el movimiento celular* (Mario Mellado)..... pp. 20-21
10. Septiembre 2012: Especial XXXV Congreso SEBBM: *El RNA naciente y la inestabilidad de los genomas* (Andrés Aguilera)..... pp. 22-23
11. Octubre 2012: *Biomateriales textiles: plasma para modular la liberación de fármacos* (Cristina Canal Barnils)..... pp. 24-25
12. Noviembre 2012: *Las Sirtuínas y la respuesta a estrés metabólico* (Alejandro Vaquero)..... pp. 26-27
13. Noviembre 2012 (2): *Proteínas motoras del citoesqueleto* (Jose Manuel Andreu)..... pp. 28-29
14. Diciembre 2012: *Lípidos que regulan su propio metabolismo (y el ajeno)* (Félix M. Goñi)..... pp. 30-31
15. Diciembre 2012 (2): Especial Premio Nobel de Medicina 2012: *El Nobel premia la reprogramación celular* (Lluís Montoliu)..... pp. 32-33
16. Enero 2013: *¿Quo Vadis, Proteómica?* (Jesús Vázquez)..... pp. 34-35
17. Febrero 2013: *Señales celulares implicadas en la activación de la inmunidad vegetal* (Carmen Castresana)..... pp. 36-37
18. Marzo 2013: Especial Premio Nobel de Química 2012: *Los receptores acoplados a proteínas G: de la función a la estructura* (Jesús Giraldo)..... pp. 38-39

19. Marzo 2013 (2): Especial en memoria de Rita Levi-Montalcini: <i>El factor de crecimiento nervioso seis décadas después</i> (José María Frade).....	pp. 40-41
20. Marzo 2013 (3): <i>La enfermedad de Alzheimer</i> (Jesús Ávila).....	pp. 42-43
21. Abril 2013: <i>El papel regulador de la cromatina en la transcripción</i> (Luis Franco).....	pp. 44-45
22. Mayo 2013: <i>Hacia la utilización de cannabinoides en terapias antitumorales</i> (Guillermo Velasco).....	pp. 46-47
23. Junio 2013: <i>El sincrotrón Alba</i> (Jordi Juanhuix).....	pp. 48-49
24. Junio 2013 (2): <i>La reprogramación celular</i> (Manuel Serrano).....	pp. 50-51
25. Julio 2013: <i>Diseñadas para comunicar</i> (Arantxa Tabernero).....	pp. 52-53
26. Agosto 2013: <i>El metabolismo del cáncer</i> (Cristina Muñoz-Pinedo).....	pp. 54-55
27. Septiembre 2013: Especial XXXVI Congreso SEBBM: <i>El simportador de yodo, desde su fisiología hasta su uso diagnóstico y terapéutico</i> (Pilar Santisteba...)	pp. 56-57
28. Octubre 2013: <i>La resolución estructural como herramienta para la definición de dominios y zonas de interacción</i> (Jerónimo Bravo Sicilia).....	pp. 58-59
29. Noviembre 2013: <i>Vitamina D y Cáncer</i> (Alberto Muñoz Terol).....	pp. 60-61
30. Diciembre 2013: <i>Lípidos y lipidómica</i> (Jesús Balsinde).....	pp. 62-63
31. Enero 2014: <i>Inflamación y macrófagos: amigos o enemigos</i> (Sonsoles Hortelano).....	pp. 64-65
32. Enero 2014 (2): <i>La leptina, una hormona multifuncional que regula el balance energético</i> (Vicente Barrios).....	pp. 66-67
33. Febrero 2014: <i>El impacto de la nueva legislación en la investigación con animales</i> (Belén Pintado).....	pp. 68-69
34. Marzo 2014: <i>El gen del X frágil y sus patologías</i> (Elizabeth Pintado).....	pp. 70-71
35. Marzo 2014 (2): <i>¿Por qué en China no funcionan bien los implantes cocleares?</i> (Miguel A. Merchán).....	pp. 72-73
36. Abril 2014: <i>Dinámica de la topología del DNA durante la replicación</i> (Jorge Bernardo Schwartzman Blinder).....	pp. 74-75
37. Mayo 2014: <i>Ensamblaje de la cromatina e integridad genómica</i> (Félix Prado).....	pp. 76-77
38. Junio 2014: <i>Simbiogénesis y bricolaje metabólico</i> (Juli Peretó).....	pp. 78-79
39. Julio 2014: Especial Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2013: <i>Del tráfico de membrana a la comunicación neuronal</i> (José A. Esteban).....	pp. 80-81

40. Agosto 2014: *La respuesta celular al estrés* (César de Haro)..... pp. 82-83
41. Septiembre 2014: Especial XXXVII Congreso SEBBM: *La dUTPasa, una NTP-pirofosfatasa todo- α que controla el nivel de uracilo en el ADN* (Dolores González-Pacanowska)..... pp. 84-85
42. Octubre 2014: *Elementos móviles del DNA en el genoma humano: un tesoro en la basura* (José Luis García-Pérez)..... pp. 86-87
43. Noviembre 2014: *La conjugación bacteriana y el desafío de la resistencia a antibióticos* (Itziar Alkorta)..... pp. 88-89
44. Diciembre 2014: *Las distrofias hereditarias de la retina: un doble reto* (Enrique de la Rosa)..... pp. 90-91
45. Diciembre 2014 (2): Especial *El Premio Nobel de Química 2013* (Modesto Orozco)..... pp. 92-93

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



Asociaciones funcionales de chaperonas

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2012.01.1

Arturo Muga

Unidad de Biofísica (CSIC-UPV/EHU) y Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencia y Tecnología. Universidad del País Vasco (UPV/EHU).

Biografía

Arturo Muga Villate (Bilbao, 1961) se licenció en Ciencias Biológicas por la Universidad del País Vasco, donde realizó la Tesis Doctoral (1988) bajo la dirección del Dr. José L. Rodríguez Arrondo en el campo de la caracterización conformacional de proteínas de membrana. Durante su estancia postdoctoral en el NRCC (Canadá) se familiarizó con los requerimientos estructurales que permiten a una proteína soluble incorporarse en una bicapa lipídica, y comenzó a interesarse en el plegamiento proteico y en las chaperonas moleculares. Actualmente es Catedrático de la Universidad del País Vasco, y continúa trabajando en el campo de las chaperonas, especialmente en la caracterización de las chaperonas implicadas en la reactivación de agregados proteicos y en su asociación funcional.

Resumen

Las chaperonas son proteínas que mediante distintos mecanismos, la mayoría dependientes de ATP, persiguen un fin común: evitar la agregación proteica. Participan en diversos procesos biológicos debido a su capacidad de formar asociaciones funcionales, que son esenciales para mantener la homeostasis proteica celular.

Summary

Molecular chaperones are proteins that act with different mechanisms, mostly at the expense of ATP, but all serve to a common purpose: to avoid protein aggregation. They are involved in diverse biological processes due to their ability to associate into cooperative networks that are essential to maintain cellular protein homeostasis.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

La especificidad de las proteínas, es decir la propiedad que hace que los polipéptidos sean capaces de distinguir ligandos y de catalizar determinadas transformaciones químicas, depende de su estructura tridimensional. Como la cadena polipeptídica se sintetiza de manera lineal, hace falta transformar la información lineal en tridimensional en un proceso que se conoce como plegamiento proteico. Los trabajos pioneros de Christian Anfinsen demostraron que la secuencia de la proteína contenía toda la información necesaria para adoptar su estructura tridimensional activa y estable, sin la necesidad de factores adicionales. Este postulado es correcto en ciertas condiciones experimentales, pero en la vida real la situación es diferente: las cadenas polipeptídicas emergen del ribosoma como cadenas lineales en un disolvente polar, el agua. El problema principal, que hay que resolver, es evitar que las interacciones entre zonas hidrofóbicas de estas cadenas, necesarias para formar el núcleo de las conformaciones nativas, establezcan interacciones intra- o inter-moleculares no-nativas. Este problema se agrava debido a la alta concentración de macromoléculas del medio intracelular que favorece las asociaciones intermoleculares, incluidas las asociaciones ilícitas de intermediarios de plegamiento “pegajosos” que exponen estas regiones hidrofóbicas al disolvente polar.

Solucionar este problema es fundamental para mantener la homeostasis proteica (proteostasis) en la célula, es decir el equilibrio dinámico en el que la síntesis y plegamiento proteico se armoniza de forma apropiada con la degradación para conseguir un proteoma sano (1). Para evitar o minimizar la agregación y favorecer el plegamiento proteico, la célula sintetiza un tipo de proteínas, conocidas como chaperonas, que impiden las asociaciones intermoleculares de polipéptidos parcialmente (des)plegados.



Durante las dos últimas décadas se han descrito las propiedades funcionales de numerosas chaperonas en células procariontas y eucariotas. Sin embargo, sólo se conoce con detalle la estructura tridimensional y el mecanismo de acción de unos pocos ejemplos. Uno de ellos, quizás el mejor caracterizado, es GroEL, la representante bacteriana de la familia Hsp60. La estructura cristalográfica de este homotetradecámero y de su complejo con la co-chaperona GroES, junto con estudios de criomicroscopía electrónica y la caracterización bioquímica de numerosos mutantes han permitido entender su mecanismo de acción a nivel molecular. El Premio Lasker 2011 ha querido reconocer especialmente las contribuciones realizadas en este campo por los grupos de Arthur Horwich y Ulrich Hartl (2,3).

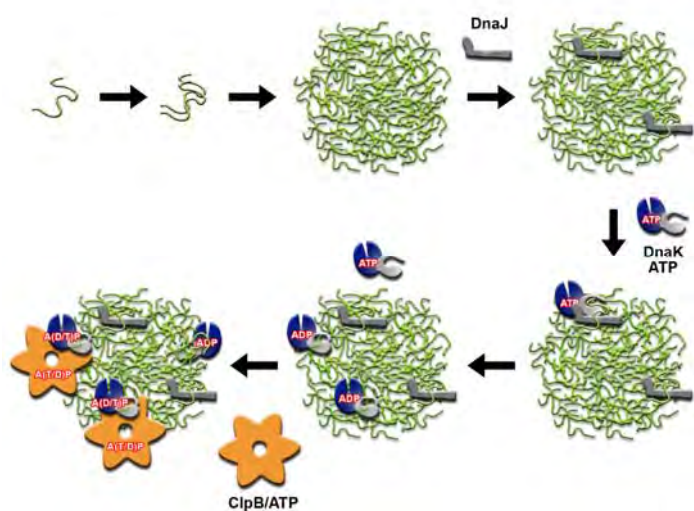


Figura- Unión secuencial de DnaJ, DnaK y ClpB a la superficie de agregados proteicos, donde cooperan para extraer y replegar sus componentes desnaturalizados.

GroEL está formada por dos anillos heptaméricos unidos por su base, que contienen una cavidad central, conocida como "jaula de Anfinsen", donde se pliega el sustrato proteico en condiciones de aislamiento. Durante el ciclo funcional, la actividad ATPasa de la proteína controla los cambios conformacionales, que modifican convenientemente las propiedades químicas de las paredes de la cavidad central y el volumen de la misma, para que se produzca el plegamiento y posterior liberación del sustrato. La formación del complejo GroEL-GroES en presencia de ATP induce un aumento del volumen de la cavidad, necesario para que se reorganice estructuralmente el sustrato durante su plegamiento, y que los residuos hidrofóbicos que interactuaban con el polipéptido desplegado se escondan, lo que provoca la disociación del sustrato y su plegamiento en el interior de la cavidad. Un complejo entramado de comunicaciones alostéricas hace que todas las subunidades de un anillo

se comporten de la misma manera, y que los dos anillos alternen su funcionalidad.

Los últimos diez años han sido testigo de la importancia de las asociaciones funcionales de chaperonas para mantener la integridad del proteoma. Por ejemplo, distintas familias de chaperonas deben cooperar para conseguir el replegamiento de sustratos proteicos (3,4). Esta cooperación se observa tanto en procariontas como en eucariotas, demostrando que la evolución conserva esta manera de realizar un esfuerzo concertado. Asociaciones específicas de chaperonas pueden incluso reactivar agregados proteicos, que inevitablemente se forman al mantener un tiempo prolongado determinadas situaciones de estrés y durante el envejecimiento celular. Debido a la toxicidad de los agregados o de las conformaciones precursoras de los mismos, éstos deben ser eliminados a través de dos rutas fundamentales. La primera supone la digestión completa de las proteínas plegadas defectuosamente por proteasas, y por tanto la pérdida de la energía invertida en su síntesis. La segunda vía implica su desagregación no destructiva y la posterior reactivación de sus componentes. Este proceso se lleva a cabo mediante la acción concertada de chaperonas de las familias Hsp70 y Hsp100, que se unen de forma secuencial a la superficie del agregado (5, Figura), regulando la necesidad de formar asociaciones más o menos complejas para conseguir su reactivación. Por lo tanto, las chaperonas, consideradas como componentes que pueden formar distintas asociaciones funcionales, constituyen uno de los sistemas más potentes para regular el plegamiento y la agregación proteica. La caracterización de estos sistemas de chaperonas podría tener aplicaciones biomédicas, especialmente en patologías asociadas con el plegamiento defectuoso y agregación de un número creciente de polipéptidos.

Referencias

1. Tyedmers, J., Mogk, A. y Bukau, B. (2010) Cellular strategies for controlling protein aggregation. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 11, 777-788
2. Hartl, F.U. Chaperone-assisted protein holding: the path to discovery from a personal perspective (2011) *Nat. med.* 17, viii-xii.
3. Horwich, A.L. Protein folding in the cell: an inside story (2011) *Nat. Med.* 17, xiii-xviii.
4. Cuéllar, J., Martín-benito, J., Scheres, S., Sousa, R., Moro, F., López-Viñas, E., Gómez-Puertas, P., Muga, A., Carrascosa, J.L. y Valpuesta, J.M. (2008) The structure of CCT-Hsc70NBD suggests a mechanism for Hsp70 delivery of substrates to the chaperonin. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 15, 858-864.
5. Acebrón, S.P., Martín, I., del castillo, U., Moro, F. y Muga, A. (2009) DnaK-mediated association of ClpB to protein aggregates. A bichaperone network at the aggregate surface. *FEBS Lett.* 583, 2991-1996.

SEBBM DIVULGACIÓN ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



Acerca del dolor

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2012.01.2

Antonio Ferrer Montiel
Instituto de Biología Molecular y Celular (Universidad Miguel Hernández de Elche)

Biografía

Antonio Ferrer Montiel se licenció en Ciencias Químicas por la Universidad de Alicante en el año 1985, doctorándose en el año 1989. Su tesis doctoral versó sobre los mecanismos implicados en la quimiorresistencia de los tumores. Posteriormente, se trasladó al Departamento de Física de la Universidad de California, en San Diego, para realizar una estancia postdoctoral que le introdujo en el campo de los canales iónicos. En 1997, y aprovechando la creación de la Universidad Miguel Hernández en Elche, volvió a España para incorporarse al Instituto de Biología Molecular y Celular, en el que lleva desarrollando su investigación desde entonces. Actualmente, su interés científico se centra en comprender a nivel molecular los mecanismos de transducción del dolor con el fin de poder dar soluciones terapéuticas que alivien los síntomas de las personas que los sufren. Ha dirigido 12 tesis, publicado más de 80 artículos en revistas internacionales y participado como asesor en diversos comités científicos y empresariales.

Resumen

El dolor representa un grave problema social y económico que no tiene un tratamiento terapéutico adecuado debido, fundamentalmente, a su complejidad etiológica y a los efectos adversos de los analgésicos actuales. Superar este inconveniente requiere un conocimiento preciso de los mecanismos moleculares implicados en la patogenia de los diferentes tipos de dolor.

Summary

Pain represents a serious social and economical burden that lacks adequate therapeutic treatment due, basically, to its etiologic complexity and the secondary effects displayed by currently used analgesics. To overcome this handicap it is necessary a better knowledge of the molecular mechanisms involved in the physiopathology of the different kinds of pain.

<http://www.sebbm.es/>
HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

Cuando oímos hablar del dolor o, más claramente, cuando vemos una imagen mostrando una situación dolorosa, todos solemos sentir un cierto grado de malestar. Esta solidaridad emocional está en parte justificada si consideramos la definición de dolor que da la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP), a saber, “una experiencia emocional y sensorial desagradable y subjetiva asociada con un daño real o potencial de un tejido o descrita en tales términos”. Se estima que existen en la actualidad unos 500 millones de personas que sufren dolor (20% de la población mundial), con un incremento del 10-15% anual, lo que se traduce en más de 100 millones de visitas anuales al médico, con una pérdida de 10.000 M€ en días de trabajo y 200.000 M€ en productividad. Además, y más grave, la tasa de suicidios alcanza el 20% entre los pacientes de dolor crónico, y la incidencia de depresión llega hasta el 30%.

Resulta evidente que el dolor representa un gravísimo problema social y económico que, desafortunadamente, todavía no tiene una eficacia terapéutica adecuada. Los analgésicos actualmente disponibles, antiinflamatorios no esteroideos y narcóticos, son potentes y eficaces eliminando el dolor, pero para tratamientos prolongados manifiestan efectos secundarios que son un obstáculo difícilmente salvable. Por tanto, existe una imperiosa necesidad de desarrollar analgésicos con una buena actividad pero menores efectos adversos. Es más, estos nuevos analgésicos habrían de ser capaces de discriminar entre el “dolor bueno o fisiológico”, que nos protege de agresiones externas, y el “dolor malo o patológico”, que está asociado a una enfermedad y se vuelve en sí en una patología. El logro de este objetivo requiere una comprensión de los mecanismos moleculares implicados en la patogenia del dolor, en particular del “dolor malo”

y, especialmente, cuando éste se cronifica. Hay que recalcar que eliminar toda sensación de dolor (como hacen los anestésicos) pone en tremendo riesgo la vida, como demuestra que las personas que sufren insensibilidad al dolor tienen una esperanza de vida baja.

Cuando estudiamos el dolor, lo primero que advertimos es que es un síndrome complejo que combina aspectos objetivos y subjetivos. El dolor es mucho más que una sensación física causada por una única entidad molecular (1). Es subjetivo y muy individual, caracterizado por un complejo mecanismo que involucra componentes físicos, emocionales y cognitivos; así, el dolor implica una recepción de señales procedentes de neuronas sensoriales que son interpretadas por el cerebro, junto con la percepción de una sensación desagradable centrada en una región corporal. Esta complejidad se incrementa aún más al describir los distintos tipos de dolor. De forma simplificada, atendiendo a la duración del mismo, distinguimos el agudo (<6 meses) y el crónico (>6 meses). También puede ser inducido o espontáneo. O, si se refiere a su etiología, inflamatorio, cuando procede de un daño tisular, neuropático, cuando es consecuencia de un daño en el sistema nervioso, o psicogénico, cuando no está asociado a daño tisular ni neuronal (1). El dolor es, pues, muy complejo, con distintas causas que se traducen en una sintomatología diversa. Esta variada patogenia molecular supone una seria dificultad en el desarrollo de analgésicos, al requerirse tratamientos diferenciados para los distintos tipos de dolor.

¿Qué conocemos acerca de los mecanismos moleculares implicados en la patogenia del dolor? Las sensaciones dolorosas son percibidas por neuronas sensoriales especializadas (nociceptores) existentes en nuestro sistema nervioso periférico (2). Los nociceptores son capaces de responder tanto a estímulos nocivos de naturaleza física (temperatura y presión) como química (irritantes, pH, agentes inflamatorios), y transmitir esta información al cerebro que, seguidamente, inicia una respuesta dirigida a proteger la zona dañada mientras ésta se repara (2). La respuesta nociceptiva implica la sensibilización de la región, a través del incremento de la excitabilidad de los nociceptores. Como resultado aparece la hiperalgesia (respuesta dolorosa exagerada a un estímulo ligeramente nocivo) y la alodinia (respuesta dolorosa a un estímulo inocuo), característica de los estados dolorosos (1,2). En condiciones patológicas, la hipersensibilidad neuronal persiste en el tiempo, produciendo cambios plásticos en la médula espinal y el cerebro que incrementan la sensibilización y perpetúan la transmisión e integración de las señales dolorosas, originando el dolor patológico que, mantenido en el tiempo, origina el dolor crónico.



Figura- El dolor es una sensación desagradable diseñada para protegernos frente agresiones externas. (Foto tomada de http://atencioncontinuada.blogspot.com/2010_07_01_archive.html)

A nivel molecular, si se tuviera que destacar un hallazgo rompedor en este campo sería, probablemente, la identificación del receptor TRPV1, un canal iónico activado por temperaturas nocivas ($T > 42^{\circ}\text{C}$), y compuestos irritantes como la capsaicina, el ingrediente urente de los chiles (2-4). Además, la actividad de TRPV1 es notablemente aumentada por una diversidad de agentes inflamatorios. Este receptor está expresado en los nociceptores y la potenciación de su función por agentes pro-algésicos produce un incremento de la excitabilidad de las neuronas sensoriales, resultando en la hiperalgesia y alodinia (2,4). No en vano, TRPV1 es considerado una diana terapéutica clave para el desarrollo de nuevos analgésicos, y la mayoría de compañías farmacéuticas tienen líneas de investigación alrededor de este receptor (4). No obstante, TRPV1 no es el único canal iónico implicado en nocicepción y dolor (1,2); hay otros receptores involucrados. Es evidente que a cada tipo de dolor contribuye una combinación de receptores y canales iónicos cuya composición es determinante para el diseño de tratamientos terapéuticos más eficaces y seguros que ayuden a paliar el impacto social y económico que actualmente representa el dolor, especialmente cuando se cronifica.

Referencias

1. Woolf C (2010) What is this thing called pain? J. Clin. Invest. 120, 3742-3743.
2. Julius D, Basbaum AI (2001) Molecular mechanisms of nociception. Nature 413, 203-210.
3. Montell C (2011) The history of TRP channels, a commentary and a reflection. Eur J. Physiol. 461, 499-506.
4. Messegue A, Planells-Cases R, Ferrer-Montiel A (2006) Physiology and Pharmacology of the Vanilloid receptor. Curr. Neuropharmacol. 4, 1-15.

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS

Las levaduras también sufren: mecanismos de respuesta a estrés por pH alcalino

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2012.02.1

Joaquín Ariño

Universitat Autònoma de Barcelona (UAB)



Biografía

Joaquín Ariño (Barcelona, 1957) es Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular en la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB). Licenciado en Farmacia por la Universidad de Barcelona, obtuvo el grado de Doctor por esta universidad en 1986. Tras una estancia posdoctoral en la University of Massachusetts Medical School, donde clonó la primera Ser/Thr proteína fosfatasa humana, retornó a la UAB como Prof. Titular. Especializado en el campo de las Ser/Thr proteína fosfatasas, ha descubierto muchos de estos enzimas en los más diversos organismos. Desde 1990 dirige un grupo de investigación que, empleando la levadura *Saccharomyces cerevisiae* como modelo primordial, pretende elucidar las vías de señalización de respuesta a estrés (sobre todo salino y por pH) basadas en procesos de fosfo-desfosforilación. Ha publicado alrededor de 120 artículos o revisiones y dirigido 15 Tesis Doctorales. Recientemente recibió una Distinción ICREA Academia por su labor investigadora.

Resumen

La alcalinización del medio supone un estrés importante para la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, al que reacciona con una respuesta orquestada de diversas vías de señalización que configuran una compleja respuesta transcripcional adaptativa. Nuestro grupo ha contribuido notablemente a descifrar esta red de señales y sus mecanismos de regulación.

Summary

Alkalinization of the medium is a major stress for the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, which responds to it with a variety of orchestrated signaling pathways that result in a complex adaptive transcriptional response. Our group has significantly contributed to decipher this network of signals and their regulatory mechanisms

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* es un organismo importante en Biotecnología y en la industria alimentaria, pero que también sirve de modelo de investigación en Biología. Es un organismo un tanto raro, ya que incluso en ambientes aerobios y ricos en azúcares tiende a fermentar éstos (preferentemente la glucosa) transformándolos en piruvato y, de ahí, a etanol, en lugar de oxidarlos de inmediato a CO₂ con un rendimiento energético mucho más favorable. Este metabolismo eminentemente glucolítico es fuertemente acidificante y el exceso de protones es expulsado, con gasto de energía, por una H⁺-ATPasa. De esta manera, *S. cerevisiae* acidifica marcadamente su entorno y el gradiente electroquímico formado sirve de motor para la captación de diversos cationes (sobre todo potasio) y nutrientes, que son esenciales para la supervivencia del organismo. Por lo tanto, un entorno neutro o moderadamente alcalino es poco favorable para el crecimiento de esta levadura y la alcalinización súbita del medio, siquiera modesta, le supone una importante situación de estrés que afecta negativamente su crecimiento y productividad.

Sorprendentemente, cuando hace poco más de 10 años nos interesamos por este aspecto de la biología de la levadura, descubrimos que apenas había sido investigado. Durante este tiempo nuestro grupo ha conseguido caracterizar la red de mecanismos de respuesta a una situación de estrés alcalino. Las primeras pistas relevantes las obtuvimos mediante dos aproximaciones paralelas: el estudio de la respuesta transcripcional del gen *ENA1*, que codifica una Na⁺-ATPasa importante en la destoxicación de este catión, y el análisis mediante microarrays de ADN de la respuesta transcripcional global a un incremento moderado de pH. Ambas aproximaciones nos demostraron que la respuesta a pH alcalino era multifactorial e implicaba múltiples vías de señalización (1). Una de ellas está mediada por la señal de calcio, que entra en



Sociedad Española
de Bioquímica y
Biología Molecular

cuestión de segundos desde el exterior a través de transportadores de alta afinidad y, entre otras acciones, activa la proteína fosfatasa calcineurina (2). La calcineurina desfosforila el factor transcripcional Crz1, lo que permite su entrada en el núcleo y su unión a secuencias específicas promoviendo la activación de diversos genes relevantes para la adaptación a pH alcalino (entre ellos, *ENA1*). Los datos de microarrays también mostraron que algunas vías de señalización de nutrientes, como las que responden a falta de fosfato o de cobre/hierro también son activadas por pH alcalino. De hecho, la disponibilidad de cobre y hierro resultó ser uno de los factores determinantes de la tolerancia a alto pH (3).

inhibición, promovida por una caída transitoria de los niveles de AMPc, que tiene como consecuencia la rápida activación de los factores de transcripción Msn2/Msn4. Ello promueve una respuesta transcripcional potente y rápida que implica muchos de los genes de respuesta a glucosa. La activación de Snf1 es también relevante en la adaptación a un incremento de pH, como demuestran nuestros experimentos más recientes. La interconexión de las diferentes vías que se activan por pH alcalino es sorprendentemente compleja. Así, muchos de los genes relacionados con la respuesta a falta de glucosa que se inducen por pH alcalino, y que suelen estar bajo el control de Snf1, contienen también elementos de respuesta a calcineurina en sus promotores, de manera que reciben un doble "input" a consecuencia de la alcalinización del medio (7).

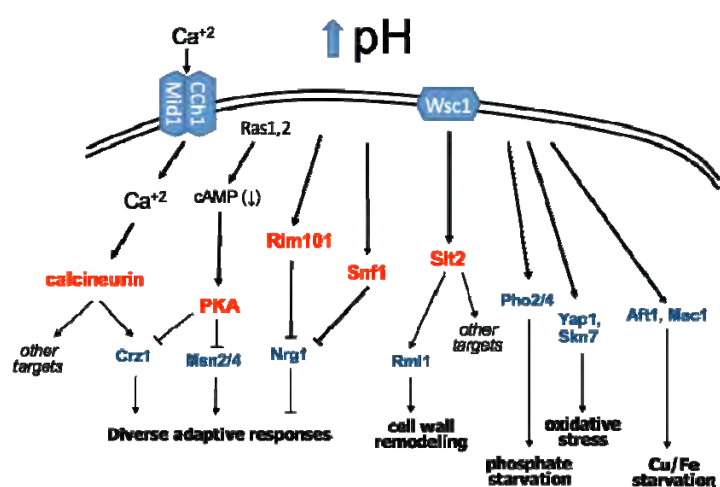


Figura- El complejo entramado de señales en la respuesta a estrés alcalino (modificado de la Ref. (8))

Otro mecanismo en la respuesta a estrés alcalino es la vía de Rim101. A diferencia de otras levaduras, en *S. cerevisiae* se trata de un efecto indirecto, ya que la activación de Rim101 conlleva la represión de la expresión de Nrg1, un represor transcripcional que actúa sobre diversos genes importantes a pH alcalino (4). La exposición a pH alcalino parece dañar de alguna manera la pared de la levadura. Ello conlleva la activación de la vía de la MAP quinasa Sit2, que coordina el mantenimiento de la integridad de la pared. En esta señalización juega un papel clave el sensor de membrana Wsc1. La activación de Sit2 justifica una parte de la respuesta transcripcional a estrés alcalino (5).

Un componente significativo de la respuesta transcripcional a pH alcalino lo constituyen genes que son regulados en respuesta a la disponibilidad de glucosa. Esta señal, extremadamente importante en levaduras, implica tanto la vía de la proteína quinasa dependiente de AMPc (PKA) como la de Snf1 (equivalente a la quinasa activable por AMP en animales). Recientemente hemos demostrado (6) que, en respuesta a pH alcalino, la vía de la PKA sufre una

En resumen, la respuesta adaptativa a estrés por pH alcalino en levadura es extraordinariamente compleja, implicando diversas vías que entrecruzan sus señales potenciando así la robustez del sistema. Su pleno conocimiento nos llevará a poder diseñar cepas específicas o condiciones de cultivo que permitan un crecimiento vigoroso, con el consiguiente impacto en la producción, incluso en condiciones desfavorables.

Referencias

1. Serrano, R., Ruiz, A., Bernal, D., Chambers, J. R., and Arino, J. (2002) *Mol. Microbiol.* 46, 1319-1333
2. Viladevall, L., Serrano, R., Ruiz, A., Domenech, G., Giraldo, J., Barcelo, A., and Arino, J. (2004) *J. Biol. Chem.* 279, 43614-43624
3. Serrano, R., Bernal, D., Simon, E., and Arino, J. (2004) *J. Biol. Chem.* 279, 19698-19704
4. Lamb, T. M. and Mitchell, A. P. (2003) *Mol. Cell Biol.* 23, 677-686
5. Serrano, R., Martin, H., Casamayor, A., and Arino, J. (2006) *J. Biol. Chem.* 281, 39785-39795
6. Casado, C., Gonzalez, A., Platara, M., Ruiz, A., and Arino, J. (2011) *Biochem. J.* 438, 523-533
7. Ruiz, A., Serrano, R., and Arino, J. (2008) *J. Biol. Chem.* 283, 13923-13933
8. Arino, J. (2010) *OMICS.* 14, 517-523

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS

Receptores de muerte celular: iniciadores de la apoptosis y algo más...

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2012.03.1



Abelardo López Rivas

Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa de Sevilla

Biografía

Abelardo López Rivas (Camas, Sevilla, 1953) obtuvo la licenciatura en Biología por la Universidad de Sevilla (1976) y el doctorado en Ciencias por la Universidad Autónoma de Madrid (1980). Su etapa posdoctoral incluye una estancia en el Imperial Cancer Research Fund de Londres hasta 1984, y un segundo posdoctoral en el Centro de Biología Molecular Severo Ochoa de Madrid. En 1986 ingresó en el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), y desde 1987 ha dirigido grupos de investigación en el Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols" de Madrid, Instituto de Parasitología y Biomedicina de Granada y Centro Andaluz de Biología del Desarrollo en Sevilla. En la actualidad es Profesor de Investigación del CSIC en el Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa de Sevilla, donde dirige el laboratorio de "Regulación de la apoptosis por receptores de muerte celular" desde 2006. Ha dirigido 11 Tesis Doctorales y es autor de más de 80 trabajos en revistas internacionales. Sus principales contribuciones científicas han sido en el estudio de la transducción de señales por receptores de factores de crecimiento y de la regulación de la apoptosis por factores de supervivencia y receptores de muerte celular.

Resumen

La muerte celular por apoptosis desempeña un papel crucial tanto en el desarrollo embrionario como en el mantenimiento de los tejidos en organismos adultos. Por otra parte, alteraciones en la apoptosis están en el origen de patologías como el cáncer, determinadas inmunodeficiencias y enfermedades degenerativas..

Summary

Cell death by apoptosis plays a fundamental role during embryonic development and in tissue homeostasis of adult organisms. Very importantly, deregulation of apoptosis can eventually lead to aberrant accumulation of cells and the development of cancer, immunodeficiencies and degenerative diseases.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

Además de la señalización de apoptosis antes mencionada, en animales superiores existen proteínas extracelulares que inducen la muerte de las células a través de receptores específicos denominados *receptores de muerte celular*. Estos receptores pertenecen a una familia de proteínas con homología estructural al receptor tipo I de TNF- α , que se caracterizan por tener un dominio citoplásmico de unos 80 aminoácidos, denominado *dominio de muerte* (DD), que controla la activación de la maquinaria de apoptosis mediante interacciones proteína-proteína (3). Estos receptores son activados por ligandos extracelulares de la familia de proteínas homólogas a TNF- α que, tras la unión a su receptor específico, inician la señalización intracelular de la apoptosis en la célula diana. En los últimos años, el análisis de secuencias EST (expressed sequence tags) similares a TNF- α en bases de datos, ha permitido la identificación de nuevos miembros de esta familia, entre los que se encuentra TRAIL/APO-2L, de gran interés por su posible especificidad de acción apoptótica sobre células tumorales (4). TRAIL activa señales de muerte a través de receptores específicos TRAIL-R1 y TRAIL-R2, que oligomerizan en la membrana celular en el llamado complejo inductor de muerte (DISC) (5), que contiene la proteína adaptadora FADD y la procaspasa-8. Esta última se activa en el DISC y puede activar caspasas efectoras (caspasa-3) o procesar la proteína proapoptótica Bid. Bid truncado se transloca a la mitocondria y activa la ruta mitocondrial de apoptosis.

Después de un gran debate sobre la posible toxicidad de TRAIL en células humanas normales, se demostró que sólo las formas muy agregadas de las preparaciones de TRAIL (His-TRAIL, FLAG-TRAIL) tienen toxicidad, sobre todo en cultivos de hepatocitos humanos primarios. No obstante, es importante indicar, que en los ensayos realizados *in vivo* en diversos modelos experimentales no se han observado efectos tóxicos. Además, en los ensayos clínicos actualmente en curso ni TRAIL recombinante ni

los anticuerpos agonistas de los receptores han mostrado una toxicidad importante. A pesar de estos resultados prometedores, los datos preclínicos sugieren que la aplicación clínica con TRAIL o agonistas de sus receptores se haga con las máximas precauciones, especialmente en tratamientos combinados con otras terapias que sensibilizan a las células tumorales a TRAIL (6).

para, entre otras funciones, producir metabolitos que son liberados al citoplasma para el reciclaje del material celular. La autofagia desempeña un papel fundamental en la generación de nutrientes durante periodos de ayuno y en la eliminación de macromoléculas y organelas dañadas en respuesta a estrés celular. La caracterización de los mecanismos reguladores de las funciones no apoptóticas de TRAIL y el diálogo molecular entre las diferentes vías de señalización intracelular pro y antiapoptóticas serán, sin duda, temas de intensa investigación en los próximos años, con importantes implicaciones clínicas.

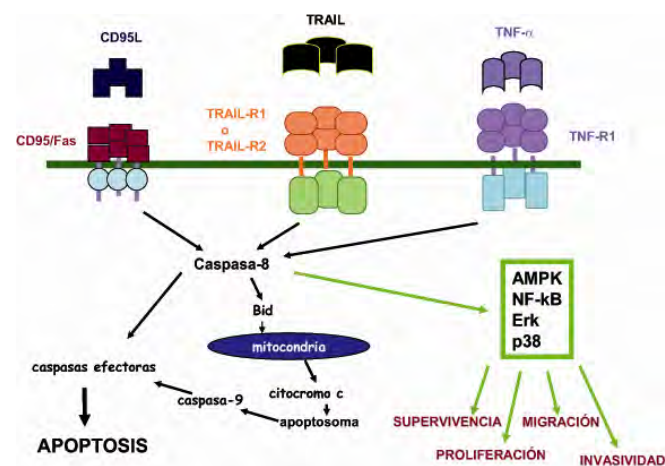


Figura- Señalización intracelular de los receptores de muerte celular

Aunque TRAIL y sus receptores proapoptóticos están ampliamente expresados en tejidos humanos, los mecanismos de la resistencia a TRAIL no son en absoluto conocidos. Se ha propuesto que la expresión diferencial de receptores señuelo (*decoy receptors*) podría explicar la diferente sensibilidad de células normales y tumorales a TRAIL. Sin embargo, esta hipótesis no se ha visto confirmada por investigaciones posteriores. Además de ser un activador de la muerte por apoptosis, TRAIL puede también inducir, tanto en células tumorales como no tumorales, procesos no deseados en su aplicación como terapia antitumoral. Así, en algunos modelos experimentales de células tumorales resistentes a TRAIL, este ligando puede favorecer la proliferación, la migración y la invasividad de las mismas (7). Estos efectos no apoptóticos de TRAIL parecen estar regulados por la ruta de señalización de las quinasas MAPK/ERK, aunque los mecanismos que conducen a la activación de esta ruta por TRAIL no son bien conocidos. TRAIL puede también inducir otras rutas de señalización de supervivencia como NF-kB y PI3K/Akt en células tumorales resistentes a TRAIL. Finalmente, resultados muy recientes de nuestro laboratorio y de otros grupos han demostrado que TRAIL puede activar un proceso de autofagia citoprotectora en células no tumorales y en células tumorales resistentes a la acción proapoptótica de TRAIL (8,9). La autofagia es un proceso de degradación lisosomal de proteínas de vida media larga y de componentes del citoplasma y de las organelas

Referencias

1. Evan G and Littlewood T (1998) A matter of life and cell death. *Science*. 281: 1317-1322.
2. Kroemer G and Reed JC (2000) Mitochondrial control of cell death. *Nat Med*. 6: 513-519.
3. Nagata S (1997) Apoptosis by death factor. *Cell*. 88: 355-365.
4. Wiley SR, Schooley K, Smolak PJ, Din WS, Huang CP, Nicholl JK, Sutherland GR, Smith TD, Rauch C, Smith CA and et al. (1995) Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis. *Immunity*. 3: 673-682.
5. Sprick MR, Weigand MA, Rieser E, Rauch CT, Juo P, Blenis J, Krammer PH and Walczak H (2000) FADD/MORT1 and caspase-8 are recruited to TRAIL receptors 1 and 2 and are essential for apoptosis mediated by TRAIL receptor 2. *Immunity*. 12: 599-609.
6. Palacios C, Yebes R and López-Rivas A (2006). Flavopiridol induces cFLIP degradation by the proteasome and promotes TRAIL-induced early signaling and apoptosis in breast tumor cells. *Cancer Research* 66: 8858-8869.
7. Newsom-Davis T, Prieske S, Walczak H (2009) Is TRAIL the holy grail of cancer therapy? *Apoptosis*. 14: 607-623.
8. Herrero-Martin G, Høyer-Hansen M, García-García C, Fumarola c, Farkas T, López-Rivas A[@] and Jäättelä M[@] (2009) TAK1 activates AMPK and AMPK-dependent cytoprotective autophagy in TRAIL-treated breast epithelial cells. *EMBO Journal* 28, 677-685.
9. Hou W, Han J, Lu C, Goldstein LA, Rabinowich H (2008) Enhancement of tumor-TRAIL susceptibility by modulation of autophagy. *Autophagy* 4:940-943

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



La simetría gobierna la reabsorción renal de aminoácidos y nuestras emociones

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2012.04.1

Manuel Palacín

Institut de Recerca Biomèdica de Barcelona (IRB-Barcelona), Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Biología, Universitat de Barcelona y CIBERER (U-731)

Biografía **Resumen**

Estudió Biología en la Universitat de Barcelona (UB) y se doctoró en la Universidad de Alcalá de Henares (1983) por su trabajo en transporte placentario de nutrientes bajo la dirección de los Profs. Miguel Ángel Lasunción y Emilio Herrera (Hospital Ramón y Cajal de Madrid). Fue Profesor Titular de Fisiología en la Facultad de Medicina de la Universidad de Extremadura (1984-86), donde estudió con el Prof. José Viña el papel del ciclo de Meischer en el transporte de aminoácidos en placenta. En el periodo 1986-1987 estudió con el Prof. Joseph Katz (Cedars Sinai Medical Center, Los Angeles, CA, EEUU) la zonación del metabolismo hepático de fructosa 2,6-bisfosfato. Profesor Titular (1987) de Bioquímica y Biología Molecular (BQBM) en la UB, compatibiliza su docencia con la colaboración con el Prof. Heini Murer (Universität Zürich) clonando la cadena pesada rBAT, descubriendo así los Transportadores Heteroméricos de Aminoácidos (HAT) (1992). Catedrático BQBM en la UB (1995). En Barcelona identifica dos genes de cistinuria y el gen de lisinuria con intolerancia a proteínas (1999). Es Jefe de grupo en el IRB Barcelona (2002), donde resuelve la estructura atómica de un homólogo procariota de las subunidades ligeras de los HAT (2011).

Los transportadores heteroméricos de aminoácidos (HAT; Heteromeric Amino acid Transporters) son intercambiadores de aminoácidos, que participan en la reabsorción renal, en la activación de mTOR y en el flujo interórganos de aminoácidos. La estructura de un homólogo procariota de sus subunidades ligeras ha revelado un plegamiento similar al transportador LeuT, paradigma estructural de los transportadores de neurotransmisores, con una simetría interna que explica el modo en el que el transportador transloca el sustrato entre ambos lados de la membrana plasmática.

Summary

Heteromeric Amino acid Transporters (HAT) are amino acid exchangers and have roles in renal reabsorption, mTOR activation and inter-organ flux of amino acids. The atomic structure of a prokaryotic homologue of the light subunits of HAT revealed a protein fold similar to that of LeuT, the structural paradigm of transporters that re-uptake neurotransmitters from the synaptic cleft. This protein fold presents an internal symmetry that explains the transport mechanism. In a figurative sense, structural symmetry rules amino acid renal reabsorption and our emotions, and may be even more.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

Hay 45 familias de transportadores secundarios (es decir, acoplados a iones, intercambiadores o difusores facilitados) de soluto en las membranas de células humanas. Once de estas familias participan en el transporte de aminoácidos (1). Nosotros descubrimos los únicos de estos transportadores constituidos por 2 cadenas polipeptídicas (subunidad pesada y ligera) unidas por un puente disulfuro, los transportadores HAT (2). Siete HAT se expresan en células humanas, los constituidos por la subunidad pesada 4F2hc y seis subunidades ligeras (LAT1, LAT2, y⁺LAT1, y⁺LAT2, xCT o asc1) y el formado por rBAT (cadena pesada) y b^{0,+}AT (cadena ligera). La subunidad pesada es necesaria para el tráfico del holotransportador a la membrana plasmática y la ligera es la subunidad catalítica (1). Los HAT son intercambiadores obligatorios de aminoácidos; sólo intercambian unos aminoácidos por otros. Su función se revela al cooperar junto a otros transportadores en la célula. Así el sistema de transporte b^{0,+} (rBAT/b^{0,+}AT) es el principal mecanismo de reabsorción renal de cistina. Mutaciones en rBAT o b^{0,+}AT causan cistinuria, aminoaciduria hereditaria caracterizada por la hiperexcreción de cistina y aminoácidos básicos (aa⁺) en orina (3-4). En el túbulo proximal renal transportadores acoplados a sodio o protones generan un gradiente de aminoácidos neutros (aa⁰) en el interior de las células epiteliales. El sistema b^{0,+} acumula cistina y aa⁺ disipando el gradiente intracelular de aa⁰, actuando así como un transportador activo. Análogamente, el sistema y⁺L (4F2hc/y+LAT1) es el mecanismo principal de reabsorción renal de aa⁺ en el dominio basolateral y sus mutaciones causan la aminoaciduria dibásica LPI (lisinuria con intolerancia a proteínas) (5). Otros HAT como 4F2hc/LAT1 y 4F2hc/xCT están sobreexpresados en tumores, señalizan proteínas clave del metabolismo (p.e. mTOR) y cons-

tituyen dianas terapéuticas (1). Son éstos algunos ejemplos para ilustrar el relevante papel de unos intercambiadores de aminoácidos de las células humanas.

Sorprendentemente, la cadena pesada 4F2hc (CD98hc) es un elemento indispensable de la función las integrinas en la adhesión celular (6). En reciprocidad, la adhesión celular podría controlar el transporte de aminoácidos a través de transportadores HAT, lo que explicaría porque la evolución ha dotado a los HAT de cadenas pesadas.

¿Cómo realizan su función los transportadores HAT? La respuesta a esta pregunta permitirá definir los mecanismos moleculares de las mutaciones de cistinuria y LPI, desarrollar inhibidores específicos y entender la relación entre adhesión celular y transporte de aminoácidos. Las bases moleculares de los mecanismos de transporte se están resolviendo desde finales del siglo pasado. En particular, dos estructuras atómicas de transportadores bacterianos han supuesto un gran avance en el transporte de aminoácidos: Gltph (7) y LeuT (8). Estos transportadores son paradigmas estructurales de los que recaptan neurotransmisores como glutamato, GABA, dopamina y serotonina de la hendidura sináptica. Sorprendentemente, el plegamiento molecular de LeuT es compartido por otras cuatro familias de transportadores, entre los que se encuentra el intercambiador de arginina/agmatina de *E. coli* (AdiC), paradigma estructural de las subunidades ligeras de los HAT (9) (Figura 1a). Los transportadores de estas familias sólo presentan un 10% de identidad de secuencia, pero conservan una pseudo-simetría binaria interna (Figura 1b): dos repeticiones relacionadas por su homología es-

tructural pero no por su secuencia. Utilizando esta simetría, el sustrato es transportado mediante el intercambio de conformaciones entre las repeticiones, lo que redundante en la apertura alternativa del transportador a ambos lados de la membrana (Figura 1c).

Así pues, la simetría es de rango superior a la secuencia en estos transportadores. De forma figurada, esta simetría gobierna desde la reabsorción renal hasta el funcionamiento de las sinapsis implicadas en nuestras emociones. Pero hay más. La gran mayoría de los transportadores secundarios, sino todos, presentan algún tipo de simetría estructural. Esto sugiere una evolución que ha combinado dos o más antecesores con capacidad para unir los solutos que transportan. Para mí, este hecho es sin duda la mayor sorpresa en mi área de investigación.

Hemos aprendido mucho, pero todavía tenemos una gran tarea por delante para entender el transporte secundario. No tenemos para uno sólo de estos transportadores las estructuras atómicas de los distintos estados que definen su ciclo de transporte. Además, sólo conocemos la estructura atómica de dos transportadores secundarios eucariotas, los mitocondriales intercambiador ADP/ATP y UCP2. La tarea es enorme, pero la identificación de los mecanismos moleculares de los transportadores secundarios de eucariotas es hoy una empresa factible y fascinante.

Referencias

- 1) Bröer S, Palacín M (2011) The role of amino acid transporters in inherited and acquired diseases. *Biochem J.* 436:193-211
- 2) Bertran J et al. (1992) Expression cloning of a cDNA from rabbit kidney cortex that induces a single transport system for cystine and dibasic and neutral amino acids. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 89:5601-5.
- 3) Calonge MJ et al. (1994) Cystinuria caused by mutations in rBAT, a gene involved in the transport of cystine. *Nat Genet.* 6:420-5.
- 4) Feliubadaló L, et al.; International Cystinuria Consortium. (1999) Non-type I cystinuria caused by mutations in SLC7A9, encoding a subunit (bo,+AT) of rBAT. *Nat Genet.* 23:52-7.
- 5) Torrents D et al., (1999) Identification of SLC7A7, encoding y+LAT-1, as the lysinuric protein intolerance gene. *Nat Genet.* 21:293-6.
- 6) Feral CC et al. (2005) CD98hc (SLC3A2) mediates integrin signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 102:355-60.
- 7) Yamashita A et al. (2005) Crystal structure of a bacterial homologue of Na⁺/Cl⁻-dependent neurotransmitter transporters. *Nature* 437:215-223.
- 8) Yernool D et al. (2004) Structure of a glutamate transporter homologue from *Pyrococcus horikoshii*. *Nature* 431:811-818.
- 9) Kowalczyk L et al. (2011) Molecular basis of substrate-induced permeation by an amino acid antiporter. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 108:3935-40.

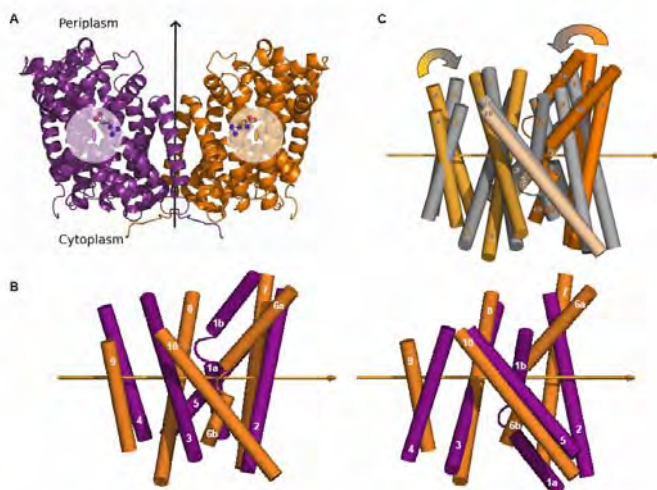


Figura 1. Pseudo-simetría binaria del intercambiador de arginina/agmatina AdiC. A) Representación idealizada del dímero de AdiC con el eje de simetría del dímero (flecha negra). Cada protómero (violeta y naranja) está en la conformación abierta-hacia-afuera e incluye la arginina unida en el centro del transportador y próxima el pseudo-eje de simetría binario en cada protómero (óvalos). B) Representación con cilindros de los 10 primeros segmentos transmembrana del protómero de AdiC (izquierda). La Repetición 1 (TM1-TM5, violeta) y la Repetición 2 (TM6-TM10, naranja) se superponen (derecha) mediante rotación (180°) usando el pseudo-eje de simetría binario (flecha). Las divergencias señalan los cambios conformacionales que cada repetición sufre durante la translocación del sustrato. C) Conformación abierta-hacia-adentro de AdiC (gris) basada en la conformación abierta-hacia-afuera (naranjas) usando la pseudo-simetría. Figura adaptada de la ref. 9.

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS

Una función celular básica: el trasiego de sustancias a través de sus membranas

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2012.05.1

Cecilio Giménez
Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CSIC-UAM)



Biografía

Cecilio Giménez (Dalias, Almería, 1948) es Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular en la Universidad Autónoma de Madrid. Perteneció al Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CSIC-UAM) y forma parte del Centro de Investigación Biológica en Red de Enfermedades Raras y del Instituto de Investigación Biomédica IdiPAZ (ambos de Instituto Carlos III). El Prof. Giménez ha dirigido varias Tesis Doctorales y ha publicado más de 100 artículos sobre Neurobiología. Su trabajo se ha centrado en el estudio bioquímico, biofísico y molecular de sistemas de transporte para aminoácidos neurotransmisores en neuronas y células de glía, y su implicación en neurotransmisión en estados patológicos. Actualmente, el laboratorio se dedica al estudio de las bases moleculares de la esquizofrenia en relación a la hipótesis glutamatérgica y del estudio de mutaciones causantes de hiperekplexia.

Resumen

La evolución ha diseñado a través de patrones comunes varias familias de proteínas de membrana, que regulan todo el tráfico de sustancias hacia adentro y hacia fuera de la célula. Su actividad es de una importancia vital para la vida celular y una función defectuosa da lugar a numerosos estados patológicos. El conocimiento a nivel molecular de estas proteínas es esencial para el desarrollo de nuevas estrategias diagnósticas y terapéuticas

Summary

The evolution has designed through common patterns several families of membrane proteins that regulate the traffic of substances inward and outward from the cell. Its activity is of vital importance to cellular life, and a defective function in the transporters function gives rise to numerous pathological states. Their knowledge at the molecular level is essential for the development of new diagnostic and therapeutic strategies

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

Uno de los primeros logros en la evolución consistió en separar físicamente a los componentes celulares del medio circundante, y esto se realizó mediante la formación de bicapas lipídicas, un proceso espontáneo de asociación de sustancias anfipáticas en un medio acuoso. El resultado es la aparición de un entorno cerrado conteniendo diferentes sustancias, que en el caso celular lo constituyen metabolitos, proteínas, orgánulos, etc. Las células son, desde el punto de vista termodinámico, sistemas abiertos, esto es, deben ser capaces de intercambiar materia y energía con su entorno. Esta necesidad hace que la célula esté obligada a intercambiar una gran cantidad de sustancias a través de sus membranas, las cuales son estructuras con un entorno exterior polar y una capa interior muy hidrofóbica. Sólo unas pocas sustancias son capaces de atravesar libremente las membranas, bien porque se trata de moléculas muy pequeñas (agua, gases), o porque son moléculas lipofílicas (ácidos grasos neutros, esteroides, etanol, benceno, etc.). El resto lo tienen que hacer a través de la intermediación de proteínas de membrana que constituyen aproximadamente un tercio de todas las proteínas de la célula, lo que da una idea de la importancia de los sistemas de transporte, bien sean canales iónicos o transportadores de solutos. Los transportadores de solutos, a los que me referiré principalmente en adelante, representan la segunda mayor familia entre las proteínas de membrana en humanos con 383 miembros, detrás de la familia de receptores acoplados a proteínas G con 700 genes. Las proteínas transportadoras de solutos controlan la entrada y salida de la célula de sustancias como azúcares, aminoácidos, nucleótidos, iones inorgánicos y fármacos. Los transportadores han sido agrupados de acuerdo con sus funciones. Algunos son denominados “uniportadores”, porque realizan la traslocación unidireccional de una sustancia. Los llamados “simportadores” o “antiportadores” realizan el paso simultáneo de dos sustancias en el mismo sentido o en sentido contrario, respectivamente. Estas proteínas transportadoras embutidas en la bicapa lipídica permiten el paso de solutos a su través mediante la formación de un poro constituido por dominios transmembrana en forma de hélice alfa.

Durante el proceso de traslocación de la sustancia a través de este poro, la proteína sufre cambios conformacionales como consecuencia del movimiento de estas estructuras secundarias helicoidales. Muy brevemente citaré que, desde el punto de vista energético, los transportadores se clasifican en transportadores pasivos (no requieren el aporte directo de energía) o activos (primarios o secundarios dependiendo de su dependencia de energía). El primer grupo lo constituyen canales iónicos y transportadores que median el paso de sustancias a favor de gradiente. Los transportadores activos primarios utilizan una fuente directa de energía como hidrólisis de ATP, luz, o reacciones de oxidación para impulsar el paso de una sustancia en contra de su gradiente, mientras que los transportadores activos secundarios acoplan el paso del soluto (en contra de gradiente) al paso de un ión "acoplante" como sodio o protones, los cuales pasan a favor de gradiente.

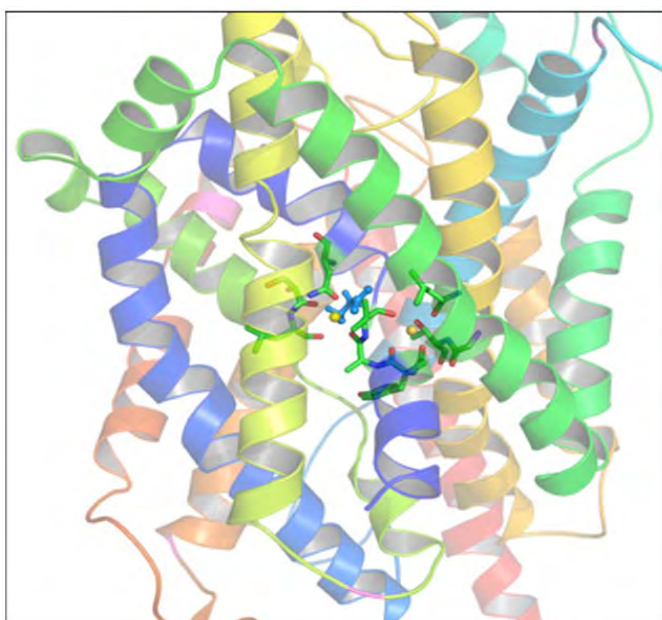


Figura- Muestra, a modo de ejemplo, una vista cenital de un transportador de glicina mostrando el poro de transporte de sustrato e iones acoplantes.

Más de 50 transportadores activos primarios (aparte de las ATPasas) de humanos pertenecen a una superfamilia llamada transportadores ABC, que transportan iones, azúcares aminoácidos, fosfolípidos, toxinas y gran cantidad de fármacos. Su función es muy importante en muchas terapias, puesto que regulan la absorción y eliminación de fármacos.

Un mal funcionamiento en el mecanismo de transporte de la mayor parte de las proteínas transportadoras acarrea disfunciones en diversas partes del cuerpo, lo que abunda en su importancia regulando procesos fisiológicos fundamentales. Por ejemplo, la malabsorción de glucosa o galactosa, caracterizada por una diarrea severa, está causada por un defecto en el funcionamiento del transportador intestinal de glucosa

dependiente de sodio. La pérdida de los transportadores de lisina, arginina y cisteína en las membranas en cepillo intestinales o renales causan la aparición de una enfermedad llamada cistinuria y piedras en el riñón. Mutaciones en el transportador llamado rBAT (para aminoácidos básicos) causa cistinuria tipo I. La fibrosis cística está causada por un mal funcionamiento de un canal de cloruro y, como último ejemplo, mutaciones en un transportador de glicina en neuronas del SNC causan una enfermedad neuromuscular llamada hiperplexia.

Cada vez es más frecuente la descripción de polimorfismos en genes que codifican transportadores que producen o predisponen a enfermedades. Variantes génicas en el promotor del transportador de serotonina o en el transportador de dopamina se ha asociado al riesgo de padecer Alzheimer o Parkinson respectivamente o estar implicadas en adicción a drogas.

Me gustaría, por último, hacer mención de la importancia que tienen muchos transportadores a la hora de diseñar sustancias de uso terapéutico. Son fundamentales en la absorción intestinal de sustancias a través del tracto gastrointestinal, así como en su distribución tisular y celular hasta alcanzar su objetivo. En otras ocasiones, los propios transportadores constituyen la diana farmacológica como en el caso del antiepiléptico tiagabina (inhibidor de un transportador de GABA), antidepresivos como los inhibidores específicos del transportador de serotonina, o los transportadores implicados en la resistencia a agentes neoplásicos, entre otros muchos.

Referencias

- 1.- Fredriksson R, Nordström KJV, Stephansson O, Häggglund MGA and Schiöth HB. The solute carrier (SLC) complement of the human genome: phylogenetic classification reveals four major families. *FEBS Letters* 2008; 582, 3811-3816.
- 2.- West IC. Ligand conduction and the gated-pore mechanism of transmembrane transport. *Biochim. Biophys. Acta* 1997; 1331, 213-234.
- 3.- Palacín M, Estévez R, Bertan J and Zorzano A. Molecular Biology of Mammalian Plasma Membrane Amino Acid Transporters. *Physiological Rev.* 1998; 78, 969-1054.
- 4.- Kanner BI and Zomot E. Sodium-Coupled Neurotransmitter Transporters. *Chem. Rev.* 2008; 108, 1654-1668.
- 5.- Kanner BI. Intimate contact enables transport. *Nature* 2005; 437, 203-205.
- 6.- Bröer, S and Palacín M. The role of amino acid transporters in inherited and acquired diseases. *Biochem. J.* 2011; 436, 193-211.
- 7.- Zafra F, Aragón C and Giménez C. Molecular Biology of Glycinergic Neurotransmission. *Mol. Neurobiol.* 1997; 14, 117-142.
- 8.- Zafra F and Giménez C. Glycine Transporters and Synaptic Function. *IUBMB Life* 2008; 60, 810-817.

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS

Forma, función y fertilidad de los espermatozoides

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2012.06.1

Eduardo Roldán

Grupo de Ecología y Biología de la Reproducción, Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC)



Biografía

Profesor de Investigación del CSIC en el Museo Nacional de Ciencias Naturales de Madrid. Licenciado en Veterinaria y Doctor en CC. Biológicas por la Universidad de Buenos Aires. Ha sido investigador posdoctoral en la Universidad de Hawaii (USA), en el Institute of Animal Physiology (Cambridge, GB), y en el Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC). Ha sido Senior Research Scientist en el Babraham Institute (Cambridge), e investigador contratado en el Dpto. de Reproducción Animal del INIA y en el Instituto de Bioquímica (CSIC-UCM). Fue Catedrático y director del Programa de Reproducción y Biología del Desarrollo en el Royal Veterinary College de la Universidad de Londres. Es autor de 150 publicaciones, y ha sido invitado a presentar ponencias en varios congresos internacionales. Ha recibido el Prize of Science and Technology de la República Popular China y el Wolfson Research Merit Award de la Royal Society of London. Es Académico Correspondiente de la Real Academia de Ciencias Veterinarias. Actualmente co-dirige con Montserrat Gomendio el Grupo de Ecología y Biología de la Reproducción..

Resumen

Los espermatozoides difieren en forma, tamaño y función, lo que afecta su capacidad de fecundar. Esta diversidad obedece a fuerzas selectivas vinculadas al ambiente donde se produce la fecundación, y competencia entre espermatozoides de diferentes machos por alcanzar el óvulo. La velocidad de natación determina en gran medida la fertilidad espermática y modificaciones en tamaño celular, forma de la cabeza, y metabolismo espermático explican las diferencias entre especies. Los genes que controlan funciones reproductivas también están bajo fuerte presión selectiva

Summary

Spermatozoa differ in shape, size and function, which affects their fertilizing ability. This diversity is due to selective forces linked to the environment where fertilization takes place and competition between spermatozoa from rival males to reach the ovum. Swimming velocity determines, to a large extent, the sperm's fertilizing capacity and modifications in cell size, head shape and sperm metabolism account for differences between species. Genes controlling reproductive function are also under strong selective pressure

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

El espermatozoide es una célula única por varias razones. Por una parte, ha evolucionado originando una enorme diversidad, que no tiene parangón en ningún otro tipo celular. La estructura básica más común de esta célula, con una cabeza conteniendo el genoma paterno y un flagelo que le confiere motilidad, ha dado lugar a una enorme diversidad morfológica. Existen espermatozoides ameboides sin flagelo, con flagelos múltiples, gigantes, y aquellos que no portan genoma paterno, entre otras múltiples especializaciones.

Existe también una gran diversidad en los mecanismos celulares y moleculares que subyacen a las funciones espermáticas. Hay diferencias en estructuras subcelulares, en la composición de membranas (por ejemplo, en la proporción de los distintos tipos de fosfolípidos, o de ácidos grasos poliinsaturados), en los mecanismos que regulan el calcio intracelular, y todas ellas afectan a la señalización intracelular durante los procesos que transcurren en la vida del espermatozoide. La multiplicidad de funciones que han de realizar para lograr fecundar hace que sea una célula altamente especializada y compartimentalizada. Además, el espermatozoide tiene una vida independiente. Una vez formado y madurado en el sistema reproductor masculino, el espermatozoide es transferido a un ambiente extraño donde desarrolla su vida "libre".

Desde un punto de vista evolutivo, el espermatozoide está bajo fuertes presiones selectivas, pues la selección actúa sobre el éxito reproductivo de los individuos y éstos dependen, en última instancia, del éxito que tengan sus espermatozoides en la fecundación, es decir, de su fertilidad. Por todo ello, el espermatozoide es la diana de fuerzas selectivas que van más allá de aquellas que operan sobre el organismo.



Sociedad Española
de Bioquímica y
Biología Molecular

Para comprender cómo se ha originado esta enorme diversidad a lo largo de la evolución, y la variación que ello ha generado en los mecanismos subyacentes, se recurre a una integración de niveles evolutivo, ecológico, fisiológico, celular y molecular. El énfasis en la diversidad de mecanismos que han evolucionado ofrece nuevas claves sobre su significado adaptativo y funcional. Una de las principales fuerzas evolutivas que ha promovido la diversidad de espermatozoides es la adaptación a los diferentes ambientes donde tiene lugar la fecundación, que abarca desde el medio marino en el que sobreviven poco tiempo, hasta su transferencia al tracto reproductivo femenino, con diferentes características morfológicas y funcionales en distintas especies, y donde han de sobrevivir mucho tiempo. Además, en muchas especies, las hembras se aparean con más de un macho por lo que los espermatozoides de machos rivales han de competir por fecundar los óvulos en un proceso denominado "competición espermática". Esta presión selectiva favorece caracteres que aportan ventajas a la competitividad del espermatozoide.

La competición espermática favorece un aumento en la velocidad de natación, que es el principal determinante de la fertilidad. El aumento en la velocidad de natación se consigue a través de varios mecanismos. Por una parte, un aumento en el tamaño del espermatozoide (que se produce por un incremento en el tamaño de cada uno de sus componentes) resulta en células que nadan más deprisa. Por otra, los cambios en la forma de la cabeza espermática también inciden sobre la velocidad de natación: una elongación de la cabeza mejora la eficiencia hidrodinámica de las células disminuyendo la resistencia que se opone al medio en el que nadan. Otros cambios en la forma, tales como la aparición de apéndices, y el aumento del volumen de la cabeza, también influyen en la velocidad. Estos cambios en la cabeza espermática obedecen, en parte, a cambios en la forma del núcleo celular que, a su vez, están relacionados con el grado de compactación de la cromatina. Las protaminas, unas proteínas nucleares básicas, son esenciales en este proceso de compactación del ADN y por ello es esperable que estén bajo fuerte selección. Se ha encontrado que existen cambios muy rápidos tanto en la secuencia codificante como en los promotores de las protaminas 1 y 2, que están promovidos por la selección sexual, y que influyen sobre la velocidad de natación.

Otra forma de aumentar la velocidad es mediante el aumento de la energía producida tanto por fosforilación oxidativa, en parte por un incremento del tamaño de la pieza intermedia del flagelo donde se encuentran las mitocondrias, y en parte por un aumento de la glicólisis que tiene lugar en el resto del flagelo. Un mayor tamaño de este componente espermático conduce también a un aumento de la fuerza de propulsión. El aumento en la cantidad de ATP producida por el espermatozoide puede tener lugar en dos pasos evolutivos. Primero se aumenta la concentración de energía por unidad de tamaño de espermatozoide, que presumiblemente se consigue gracias a un aumento en la eficacia del metabolismo energético. Posteriormente,

se da un aumento en la producción total de energía que va asociado a un aumento en el tamaño del espermatozoide.

Así, los cambios en todos los componentes del espermatozoide contribuyen de forma complementaria al aumento en la velocidad de natación. Esto requiere que muchos procesos de desarrollo y diferenciación de la célula, que son esenciales en la formación del espermatozoide, se modifiquen de forma coordinada.

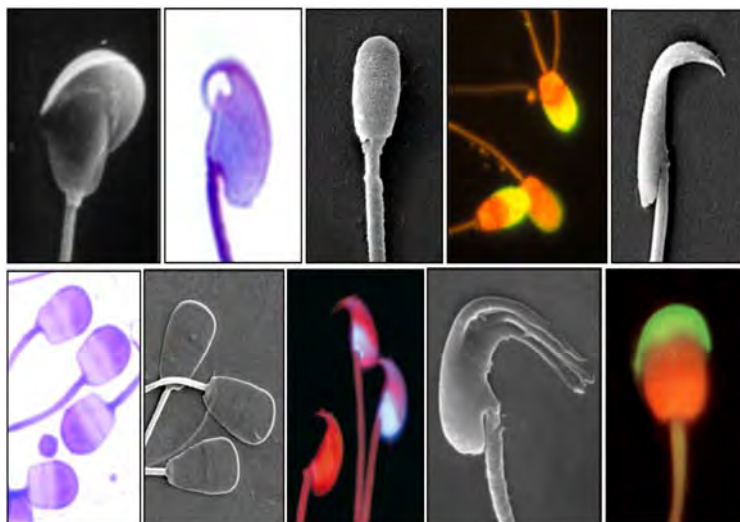


FIGURA. Diversidad en la forma de la cabeza de espermatozoides de mamíferos. La longitud total de los espermatozoides varía entre 30 y 350 μm .

Referencias

1. Gomendio M, Tourmente M, Roldan ERS (2011) Why mammalian lineages respond differently to sexual selection: metabolic rate constrains the evolution of sperm size. *Proc. R. Soc. B* 278:3135-41.
2. Gómez Montoto L, Varea Sánchez M, Tourmente M, Martín-Coello J, Luque-Larena JJ, Gomendio M, Roldan ERS (2011) Sperm competition differentially affects swimming velocity and size of spermatozoa from closely related murid rodents: head first. *Reproduction* 142:819-30.
3. Gomendio M, Martín-Coello J, Crespo C, Magaña C, Roldan ERS (2006) Sperm competition enhances functional capacity of mammalian spermatozoa. *PNAS* 103:15113-7.
4. Lüke L, Vicens A, Serra F, Luque-Larena JJ, Dopazo H, Roldan ERS, Gomendio M (2011) Sexual selection halts the relaxation of protamine 2 among rodents. *PLoS One* 6:e29247.
5. Martín-Coello J, Dopazo H, Arbiza L, Ausió J, Roldan ERS, Gomendio M (2009) Sexual selection drives weak positive selection in protamine genes and high promoter divergence, enhancing sperm competitiveness. *Proc. R. Soc. B* 276:2427-36.
6. Roldan ERS, Shi QX (2007) Sperm phospholipases and acrosomal exocytosis. *Front. Biosci.* 12:89-104.

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



Nuevo papel del tracto gastrointestinal en el desarrollo de enfermedades metabólicas

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2012.07.1

Cristina Rondinone

MedImmune / Astrazeneca

Biografía

La Dra. Rondinone es Doctora en Bioquímica por la Universidad de Buenos Aires. Su formación postdoctoral fue en el laboratorio de biología y desarrollo celular, NIDDK, Instituto Nacional de Salud de EEUU (NIH). Fue científico principal en el laboratorio de Lundberg del Dpto. de Medicina Interna, y Profesor Asociado en medicina molecular en la Universidad de Gotemburgo (Suecia). Trabajó en los laboratorios Abbott (1998-2005), donde llegó a ser Jefa del grupo de investigación de enfermedades metabólicas. En 2005, se trasladó a Hoffmann-La Roche, como director de investigación de las enfermedades metabólicas y, posteriormente, se convirtió en Senior Director y jefe del Dpto. de enfermedades metabólicas y vasculares en EEUU. Recientemente fue nombrada Vicepresidente de Investigación y Desarrollo y Jefe de Enfermedades Cardiovasculares y Metabólicas en MedImmune/AstraZeneca, teniendo a cargo el descubrimiento de medicamentos para enfermedades metabólicas y cardiovasculares. Es autora de más de 70 publicaciones y es coinventora de 5 patentes. Además, es miembro del comité editorial de *Endocrinology* y Editor Asociado de los Archivos de *Fisiología y Bioquímica*, y ha sido revisora para numerosas agencias de financiación internacionales. Recientemente ha sido elegida Académica Extranjera de la Real Academia Española de Farmacia.

Resumen

El intestino es un importante órgano metabólico que ha ganado relevancia en los últimos años dado el papel que juega en la fisiopatología de las diversas enfermedades metabólicas, incluyendo la resistencia a la insulina, la obesidad y la diabetes. El rol de las hormonas enteroendocrinas en enfermedades metabólicas, así como el papel emergente de la comunidad microbiana intestinal y la cirugía bariátrica han generado una ola de interés en la identificación de nuevos reguladores del metabolismo.

Summary

The intestine is an important metabolic organ, that has become more relevant in the last years due to the role it plays in pathophysiology of several metabolic diseases, including resistance to insulin, obesity and diabetes. The role played by enteroendocrine hormones in metabolic diseases, as well as the increasing importance of the microbiota intestinal community and bariatric surgery have increased a general interest on the identification of new metabolic regulators.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

El intestino es un órgano esencial para la digestión y la extracción de los nutrientes, lípidos, carbohidratos y proteínas, pero su papel en las enfermedades metabólicas no se ha investigado en profundidad. El concepto de qué péptidos y factores segregados por el intestino participarán en la regulación de la secreción endocrina se planteó al comienzo del siglo XX. Los primeros estudios se centraron en el papel de las hormonas del intestino en la función gastrointestinal, tales como secretina en la secreción pancreática, colecistoquinina en la contracción de la vesícula biliar y gastrina sobre la liberación de ácido gástrico. Más tarde, se introdujo el término "incretina" para describir los factores liberados del intestino que podrían estimular la secreción de insulina. Este efecto produce aproximadamente el 50 a 70% de la insulina total secretada después de la ingestión de glucosa. En los seres humanos, se identificaron dos péptidos responsables de los efectos de incretina, GIP (anteriormente llamado polipéptido inhibitorio gástrico) y GLP-1 (péptido similar al glucagón-1). Ambos péptidos son secretados en respuesta a la ingestión de alimentos y ambos potencian la respuesta inducida por la glucosa en la secreción de insulina.

Además de GIP y GLP-1, otros factores secretados por el intestino tienen efectos en numerosos órganos, incluyendo el cerebro, hígado, tejido graso y páncreas, y regulan el almacenamiento de energía, la lipólisis, el peso, el apetito, la sensación de saciedad, la viabilidad de las células β y el metabolismo de la glucosa. Estos péptidos incluyen el péptido YY, la oxintomodulina, la grelina y muchos otros. Aparte de estos péptidos intestinales, estudios recientes sugieren que la comunidad microbiana residente en el intestino desempeña un papel en el desarrollo de resistencia a la insulina y diabetes. Distorsiones en la composición y consecuentes funciones de esta microbiota potencialmente podrían contribuir a una amplia gama de enfermedades, incluidas las cardiovasculares, diabetes, enfermedades inflamatorias y enfermedades neoplásicas.

Además, se ha demostrado recientemente que la cirugía bariátrica, concebida originalmente para tratar la obesidad, puede ayudar a la diabetes. De hecho, la diabetes de tipo 2 mejora, o incluso se cura, poco después de estas operaciones y antes de la pérdida de peso. Varios mecanismos median este efecto antidiabético, incluyendo la mayor secreción de péptidos (por ejemplo, GLP-1) desde el intestino, fenómenos relacionados con la exclusión del intestino al contacto con los nutrientes ingeridos, la disminución en la secreción de grelina y probablemente otros efectos adicionales sin descubrir. Está cada vez más claro que el intestino desempeña un papel importante en la homeostasis de la glucosa, en la regulación y la secreción de insulina y en la sensibilidad a la misma.

La caracterización adicional de la función intestinal y la identificación de otros factores que contribuyan al desarrollo de las enfermedades metabólicas y cardiovasculares son parte de la estrategia para encontrar nuevos tratamientos farmacológicos de la diabetes y enfermedades asociadas.

Referencias

1. AHREN, B. (2003) Gut peptides and type 2 diabetes mellitus treatment. *Curr Diab Rep*, 3, 365-72.
2. ASHRAFIAN, H. & LE ROUX, C. W. (2009) Metabolic surgery and gut hormones - a review of bariatric entero-humoral modulation. *Physiol Behav*, 97, 620-31.
3. BACKHED, F., DING, H., WANG, T., HOOPER, L. V., KOH, G. Y., NAGY, A., SEMENKOVICH,
4. C.F. & GORDON, J. I. (2004) The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101, 15718-23.
5. DRUCKER, D. J. (2007) The role of gut hormones in glucose homeostasis. *J Clin Invest*, 117, 24-32.
6. RUBINO, F., SCHAUER, P. R., KAPLAN, L. M. & CUMMINGS, D. E. (2010) Metabolic surgery to treat type 2 diabetes: clinical outcomes and mechanisms of action. *Annu Rev Med*, 61, 393-411

Figura 1- ¿Podemos curar la obesidad y la diabetes alterando factores intestinales?

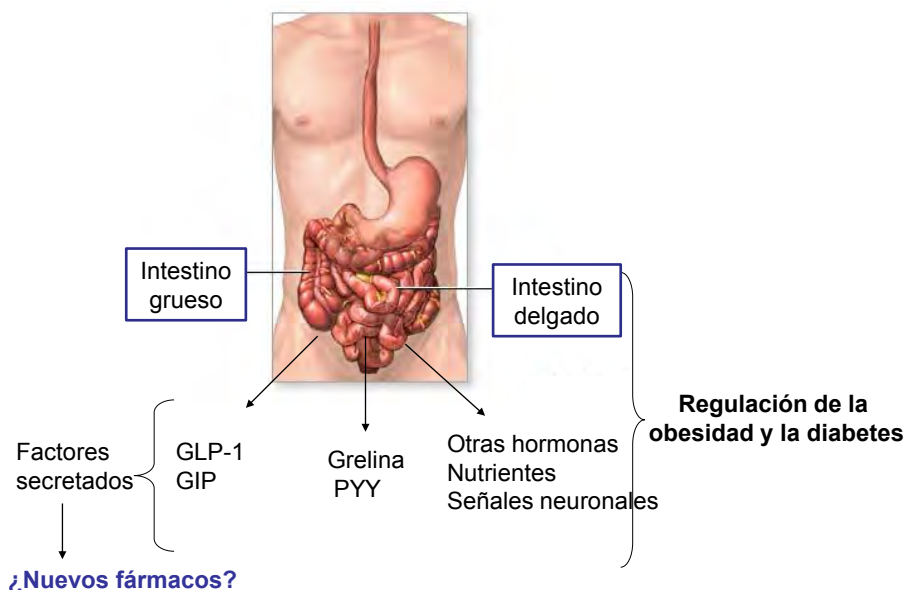


Figura. ¿Podemos curar la obesidad y la diabetes alterando factores intestinales?

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



Quimioquinas/receptores, un sistema complejo que regula el movimiento celular

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2012.08.1

Mario Mellado

Departamento de Inmunología y Oncología del Centro Nacional de Biotecnología (CNB)

Biografía

Mario Mellado García (Miranda de Ebro, Burgos, 1962) se licenció en Farmacia en la Universidad Complutense de Madrid en 1985, para posteriormente doctorarse en Farmacia en la Universidad de Alcalá de Henares de Madrid en 1990 bajo la dirección del Prof. Eladio Montoya e investigando la interacción de la hormona liberadora de tirotrópina (TRH) con su receptor. En 1991 se trasladó con una beca posdoctoral a la empresa Pharmacia donde coordinó proyectos relacionados con la hormona de crecimiento. En 1996 colaboró, como miembro de la empresa, en la formación del departamento de Inmunología y Oncología del CNB/CSIC bajo la dirección del Prof. Carlos Martínez-A. En este departamento, que dirigió en el periodo 2008-2010, continúa en la actualidad liderando el grupo de receptores de quimioquinas: nuevas dianas para la intervención terapéutica. En él estudia la biología de las quimioquinas y su participación en la respuesta inmunológica. En este sentido cabe destacar que identificó un anticuerpo neutralizante contra el receptor CCR2 que bloqueaba el asma en un modelo desarrollado en primates, describió por primera vez la dimerización de los receptores de quimioquinas e identificó rutas de señalización comunes entre quimioquinas y citoquinas abriendo la posibilidad de interferencia en la función de ambas familias de mediadores inflamatorios.

Resumen

Las quimioquinas son una familia de mediadores quimioatrayentes que por unión a receptores de siete regiones transmembrana acoplados a proteínas G promueven un amplio espectro de respuestas que van desde el movimiento celular y la respuesta inflamatoria hasta prevenir la infección por HIV-1. Su biología es compleja porque pueden dimerizar y sus receptores se localizan en la membrana celular formando dímeros y oligómeros que se organizan en complejos supramoleculares.

Summary

The chemokines, a family of structurally related chemoattractant proteins that bind to specific seven transmembrane receptors linked to G proteins, trigger a broad array of biological responses ranging from cell polarization, movement, immune and inflammatory responses to prevention of HIV-1 infection. Chemokine biology is complex as they can dimerize and that their receptors are found as dimers and/or higher order oligomers that cluster in arrays at the cell surface.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

La evolución de los organismos multicelulares está muy condicionada por la capacidad de las células para comunicarse entre ellas y con su entorno. La aparición de receptores de membrana capaces de reconocer mensajeros químicos y físicos ha permitido la formación de comunidades celulares organizadas que posteriormente han dado lugar a seres pluricelulares donde la localización celular en el espacio y tiempo adecuados resulta crítica para la vida del organismo. Aunque es importante en todos los órganos y tejidos, es en el sistema inmunológico donde probablemente el movimiento celular resulta crítico ya que de él depende no sólo la homeostasis del sistema sino también su función. La complejidad de la respuesta inmune en vertebrados depende en gran medida del trabajo de patrulla de las diferentes células que lo componen y desde hace muchos años se postuló la existencia de una red de moléculas quimioatrayentes y de receptores responsables de la localización de cada tipo celular en tiempo y espacio definido. Inicialmente se pensó que algunos péptidos bacterianos como los formilpéptidos, o fracciones del complemento, como el C5a, eran responsables de esa función, pero pronto se observó que carecían de la especificidad necesaria para que sobre ellos descansara toda la organización de la respuesta inmunológica (1). En 1987, se identificó la Interleuquina 8, IL-8, una molécula capaz de atraer granulocitos pero inefectiva sobre monocitos (2). Ésta fue la primera evidencia de la existencia de moléculas quimioatrayentes capaces de atraer células para sustentar la organización y respuesta del sistema inmunológico y, por lo tanto, se había descrito el primer miembro de la familia de quimioquinas o, como inicialmente se consideraron, de las citoquinas quimioatrayentes.

La identificación de la proteína atrayente de monocitos tipo 1 (MCP-1 ó CCL2), capaz de atraer leucocitos mononucleares pero no polimorfonucleares (3), marcó el inicio de la búsqueda de nuevas moléculas que en la actualidad se agrupan en una familia con más de 50 quimioquinas y alrededor de 20 receptores.

Definido el papel de los pares quimioquina/receptor en el movimiento celular, es fácil suponer la participación de estas moléculas, además de en la formación de los órganos linfoides, en múltiples patologías relacionadas con procesos inflamatorios, entre ellas asma, arteriosclerosis, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, encefalitis alérgica o psoriasis. También se las ha relacionado con la infección por el virus VIH-1 ya que dos de estos receptores, CCR5 y CXCR4 son correceptores para este virus, con las metástasis tumorales, y con el rechazo a transplantes. Estamos pues ante un grupo de moléculas de alto interés farmacológico y con gran proyección terapéutica.

Las quimioquinas actúan por unión a receptores de membrana pertenecientes a la familia de los GPCR ya que poseen siete dominios transmembrana y están acoplados a proteínas que unen nucleótidos de guanina, proteínas G (4). Los cambios conformacionales que provoca la unión del ligando exponen los residuos implicados en la asociación de una proteína G_i sirviendo de gatillo para el resto de la cascada señalizadora: incremento de calcio intracelular, inhibición de la actividad adenilato ciclasa, liberación de las subunidades $G\beta\gamma$ de la propia proteína G_i , activación de la fosfatidilinositol-3-quinasa, activación de quinasas relacionadas con el citoesqueleto celular como la quinasa de adhesión focal, $p125^{FAK}$, activación de MAP quinasas, etc., es decir, la señalización que conduce entre otras cosas a los cambios en el citoesqueleto necesarios para que se produzca el movimiento celular (5).

La biología de las quimioquinas es compleja porque existe mucha promiscuidad entre ligandos y receptores, además las células pueden expresar simultáneamente más de un receptor distinto y tanto los ligandos como sus receptores forman complejos de mayor orden molecular, es decir oligomerizan (6). La existencia de complejos diméricos de receptor se ha demostrado *in vitro* e *in vivo* usando técnicas clásicas de coimmunoprecipitación y tecnología biofísica de transferencia de energía resonante entre moléculas (BRET y FRET). Estos complejos se forman realmente durante la síntesis y maduración de las proteínas en el retículo endoplásmico y aparato de Golgi y así alcanzan la membrana celular. Estudios realizados usando microscopía electrónica demuestran que realmente estos receptores se organizan en la membrana en complejos supramoleculares, como si fuesen "mazos de puros" donde las unidades mínimas son los homo- y heterodímeros (6). La unión ligando a su receptor dimérico hará que ese receptor cambie de conformación y señalice, pero además provoca la propagación del cambio conformacional a otros receptores presentes en el complejo supramolecular, lo que altera sus

capacidades de unir ligando. Una vez que por acción del ligando el receptor es internalizado y desaparece de la superficie celular los demás receptores vuelven al estado de reposo inicial (Fig. 1) Homo- y heterodímeros están en el complejo en equilibrio dinámico que es regulado por la expresión de receptores en la células y los niveles de ligando en el medio extracelular (7).

La oligomerización de los receptores regula la señalización y función de las quimioquinas, la afinidad de los receptores por los ligandos y resultan críticos para definir las propiedades farmacológicas de estos mediadores inflamatorios.

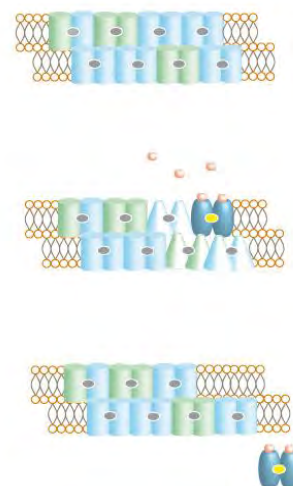


Figura 1. Los receptores de quimioquinas forman complejos supramoleculares de los que los dímeros (homo- y heterodímeros) son las unidades mínimas. La unión al ligando de su receptor específico provoca un cambio conformacional que se traslada a los receptores vecinos, alterando su capacidad de respuesta.

Referencias

- 1) Baggiolini, M. Chemokines and leukocyte traffic. *Nature* 392:565-568 (1998).
- 2) Yoshimura T. et al. Purification of a human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor that has peptide sequence similarity to other host defense cytokines. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 84:9233-9237 (1987).
- 3) Yoshimura T. et al. Purification and amino acid analysis of two human monocyte chemoattractants produced by phytohemagglutinin-stimulated human blood mononuclear leukocytes. *J. Immunol.* 142:1956-1962 (1989).
- 4) Murphy, P.M. The molecular biology of leukocyte chemoattractant receptors. *Annu. Rev. Immunol.* 12:593-633 (1994).
- 5) Thelen M. and Stein JV. How chemokines invite leukocyte to dance. *Nat. Immunology* 9:953-959 (2008).
- 6) Thelen M. et al. Chemokine receptor oligomerization: functional considerations *Curr. Opin. Pharmacol.* 10:38-43 (2010).
- 7) Martínez Muñoz L. et al. Dynamic regulation of CXCR1 and CXCR2 homo- and heterodimers. *J. Immunol.* 183:7337-7346 (2009).

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS

El RNA naciente y la inestabilidad de los genomas

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2012.09.1

Andrés Aguilera

Dpto. de Genética de la Universidad de Sevilla y Dpto. de Biología Molecular de CABIMER



Biografía Resumen

Tras su tesis doctoral en Sevilla y aproximadamente 7 años de estancias pre y postdoctorales en Golden (Colorado, USA), Darmstadt (Alemania) y New York (USA) inició su grupo de investigación en 1990 en el Departamento de Genética de la Universidad de Sevilla. Son importantes sus contribuciones científicas sobre los mecanismos de inestabilidad genómica mediados por recombinación, en particular los ligados a transcripción, y sus estudios en la interfaz transcripción-transporte de RNA, que han dado lugar a más de 130 publicaciones (*Nature*, *Cell*, *Nat. Rev. Genet.*, *Mol. Cell*, *Nat Cell Biol*, *Nat Str Mol Biol*, *Genes Dev*, *EMBO J*, *PLoS Genet*, *JCB*, etc.) y 18 tesis doctorales dirigidas hasta el momento. Es miembro electo de EMBO y ha recibido, entre otros, el Premio Carmen y Severo Ochoa y el Premio Columela de Ciencias de la Salud de Andalucía. Es catedrático de Genética en la Universidad de Sevilla y director del Departamento de Biología Molecular de CABIMER.

La inestabilidad genética es una patología típica de células tumorales y de enfermedades genéticas raras ligadas a fallos en la reparación del DNA y la respuesta al daño genotóxico. Aquí revisamos algunos aspectos y cuestiones sobre el papel de la transcripción y el RNA naciente en inestabilidad de los genomas.

Summary

Genome Instability is a pathology found in cancer cells and genetic diseases linked to failures in DNA repair and DNA damage response. Here we revise few aspects and raise some questions about the role that transcription and the nascent RNA may play in genome instability.

<http://www.sebbm.es/>
HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

La frecuencia con la que normalmente se cometen errores durante la replicación del ADN es mínima. Sin embargo, hay situaciones en las que ocurren cambios en el genoma a una frecuencia mucho más alta de lo previsto, dando lugar a una patología celular cuyo resultado es la inestabilidad genética. Los estudios sobre Inestabilidad Genética han disfrutado en los últimos años de un gran interés en Biología Molecular y Biomedicina al ser una patología comúnmente asociada a las células cancerígenas y responsable de un número de enfermedades genéticas raras como la *Xeroderma pigmentosum*, los síndromes de Cockayne, de Werner, de Bloom, de Nijmegen, etc., todas ellas resultado del mal funcionamiento de los mecanismos de reparación del DNA y de respuesta al daño genotóxico y que presentan una fuerte incidencia de cáncer y/o envejecimiento prematuro. Una de las formas de inestabilidad con más impacto celular es la que se produce por recombinación del DNA, ya que puede dar lugar a reorganizaciones cromosómicas que conllevan la pérdida de heterocigosidad o la formación de genes quimeras que alteren el ciclo y la proliferación celular. Estos fenómenos de recombinación se suelen producir por la sobreacumulación de roturas cromosómicas de forma espontánea o por fallos en los mecanismos de reparación y señalización celular del daño (Aguilera y Gómez-González 2008).

Desde la década de los 80 se sabe que en células somáticas o en crecimiento vegetativo el DNA que se transcribe recombina más que el que no se transcribe. La interpretación actual de este hecho es que el DNA de los genes activos es más proclive a romperse que el DNA intergénico o de genes silenciados. Esto se ha visto desde bacterias a células humanas (Aguilera 2002, Kim and Jinks-Robertson 2012). ¿Por qué ocurre esto? La recombinación en células vegetativas resulta mayoritariamente de la reparación de roturas íntimamente ligadas al proceso de replicación. La replicación del DNA es un proceso en el que la célula corre altos riesgos, como los de incorporar nucleótidos erróneos o que se atasquen las horquillas de replicación y se rompan. La transcripción puede contribuir a este hecho ya que supone un obstáculo para la progresión de la horquilla. El problema es mayor entre polimerasas convergentes. El aumento de la inestabilidad de un gen al transcribirse solo se detecta si se transcribe durante la fase S del ciclo celular de forma simultánea con la replicación.

En este fenómeno, conocido como recombinación asociada a transcripción (*TAR* en inglés) un intermediario que puede jugar un papel relevante es el híbrido de DNA:RNA o *R-loop* (Huertas y Aguilera 2003). Este se forma como un producto colateral de la transcripción y las células disponen de una maquinaria específica, las ribonucleasas H, para eliminar el RNA de dichas estructuras. Durante la transcripción, el RNA naciente puede re-hibridar con su DNA molde aprovechando el superenrollamiento negativo que éste acumula transitoriamente por detrás de la RNA polimerasa elongante. Los *R-loops* juegan un papel esencial en la recombinación responsable del cambio de isotipo de las Inmunoglobulinas (Yu et al. 2003). No obstante, el propio empaquetamiento proteínico del RNA naciente para formar la ribonucleopartícula así como las maquinarias de procesamiento del RNA y transporte al citoplasma impiden que se formen esos híbridos. Entre estas proteínas se encuentran THO, Sub2/UAP56, THSC/TREX-2 o Sen1/SETX, conservadas desde levaduras a humanos (Luna et al. 2009). Cuando algunas de estas proteínas no funcionan correctamente se produce un fuerte fenómeno de inestabilidad genética debido a la acumulación de *R-loops* (Figura).

Recientemente, la recombinación asociada a transcripción y los híbridos de DNA:RNA han adquirido una relevancia insospechada. Numerosos trabajos han permitido demostrar que la conocida inestabilidad de las secuencias repetidas de tripletes y, muy especialmente los sitios frágiles, regiones cromosómicas que tienden a romperse con frecuencia, están asociados a regiones de ADN que se transcriben y a la formación de *R-loops* (Aguilera and García-Muse 2012). Es decir, existen secuencias de ADN proclives a romperse como consecuencia de su

transcripción por una vía mediada por *R-loops*.

No sabemos aún por qué un *R-loop* tiene tendencia a formarse en unas regiones frente a otras, cómo genera inestabilidad, qué factores contribuyen a su formación, cómo afectan a la progresión de las horquillas de replicación o a la estabilidad de la RNA polimerasa, en qué se diferencia una recombinación asociada a *R-loop* o no asociada. Responder a estas cuestiones es clave para entender la dinámica de los genomas y muy especialmente cómo la biogénesis y procesamiento del RNA desde la transcripción al transporte núcleo-citoplasma pueden modular la integridad de los genomas.

Referencias

- 1) Aguilera A, Gómez-González B. 2008. Genome instability: a mechanistic view of its causes and consequences. *Nat Rev Genet.* 9:204-217.
- 2) Kim N, Jinks-Robertson S. 2012. Transcription as a source of genome instability. *Nat Rev Genet.* 13:204-214.
- 3) Huertas P, Aguilera A. 2003. Cotranscriptionally formed DNA:RNA hybrids mediate transcription elongation impairment and transcription-associated recombination. *Mol. Cell* 12:711-721.
- 4) Yu K, Chedin F, Hsieh CL, Wilson TE, Lieber MR. 2003. *R-loops* at immunoglobulin class switch regions in the chromosomes of stimulated B cells. *Nat Immunol.* 4:442-451.
- 5) Luna R, Gaillard H, González-Aguilera C, Aguilera A. 2008. Biogénesis of mRNPs: integrating different processes in the eukaryotic nucleus. *Chromosoma* 117:319-331.
- 6) Aguilera A, García Muse T. 2012. *R loops*: from transcription byproducts to threats to genome stability. *Mol. Cell* 46:115-124.

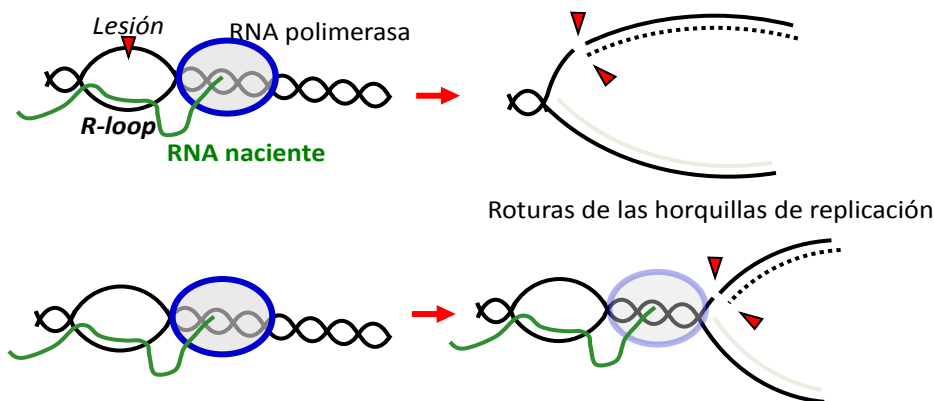


Figura 1. Roturas cromosómicas mediadas por transcripción y el RNA.

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



Biomateriales textiles: plasma para modular la liberación de fármacos

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2012.10.1

Cristina Canal Barnils

Biomateriales, Biomecánica e Ingeniería de Tejidos, Universidad Politécnica de Cataluña

Biografía

Cristina Canal Barnils es licenciada en Ciencias Químicas por la Universidad Autónoma de Barcelona (2001), Doctora en Ingeniería Textil por la Universidad Politécnica de Cataluña (UPC, 2005) y cuenta con un Máster en Investigación, Desarrollo y Control de Medicamentos por la Universidad de Barcelona (2010). Recientemente premiada con las Bolsas de Investigación L'Oréal-Unesco "Por las mujeres en la ciencia" (Edición 2011) en el área de Ciencia de Materiales, realizó la Tesis Doctoral en el CSIC estudiando la modificación superficial de materiales textiles mediante plasma de baja temperatura para mejorar propiedades textiles mediante dicha técnica respetuosa con el medio ambiente. Recibió el premio "Miquel Mas Molas" por la tesis doctoral en 2006. En su etapa post-doctoral ha orientado su temática de investigación hacia áreas más relacionadas con la biomedicina, realizando distintas estancias post-doctorales tanto en España como en el extranjero (Francia, Eslovenia, Portugal). Actualmente desarrolla su investigación en el Grupo de Biomateriales, Biomecánica e Ingeniería de Tejidos del Departamento de Ciencia de Materiales e Ingeniería Metalúrgica de la UPC y codirige 3 Tesis Doctorales, ha sido IP en distintos proyectos de investigación, ha publicado más de 30 artículos en revistas científicas, y es coinventora en tres patentes internacionales, 2 de ellas licenciadas.

Resumen

Materiales textiles encuentran aplicaciones como biomateriales para la reparación y regeneración de distintas patologías tanto en tejidos blandos como en tejidos duros y su uso como sistemas de liberación controlada de fármacos reportaría numerosas ventajas. La modificación superficial de las fibras a nivel nanométrico mediante plasma de baja temperatura puede ser utilizada como herramienta para modular las interacciones biomaterial-fármaco y por tanto, conseguir una liberación controlada de los principios activos.

Summary

Textile materials find their application as biomaterials on the repair and regeneration of different pathologies of soft and hard tissues. Their use as controlled drug delivery systems would provide several advantages. Surface modification of fibres at a nanometric level by low temperature plasma can be used as a tool to regulate the interactions biomaterial-drug and thus, achieving a controlled release of active principles.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

Un **biomaterial** puede definirse como una sustancia que ha sido diseñada para tomar una forma que por sí misma o como parte de un sistema complejo, se utiliza para dirigir, mediante el control de las interacciones con componentes de sistemas vivos, el desarrollo de cualquier procedimiento diagnóstico o terapéutico, en medicina humana o veterinaria^[1]. Los biomateriales pueden estar constituidos por: polímeros, metales, cerámicas, materiales de origen natural y sus compuestos, obtenidos por combinación de dos o más de estos materiales.

Una clase particular de biomateriales lo constituyen los **materiales poliméricos de base textil** (fibras, hilos, tejidos), que se incluyen dentro de los denominados Textiles Médicos (*MedTech*). Dichos materiales textiles se pueden utilizar como biomateriales en implantes para la reparación y regeneración de distintas patologías tanto en tejidos blandos (por ejemplo en el tratamiento de hernias con mallas abdominales), como en tejidos duros - como el hueso (en que se pueden utilizar fibras como refuerzo en cementos de composición similar a la matriz inorgánica hueso o bien mallas-andamios en agujas intramedulares).

En dichos tipos de aplicaciones, conseguir administrar fármacos de forma local y durante un periodo de tiempo adecuado a la patología a tratar reportaría ventajas al paciente y por tanto puede conferir valor añadido a los biomateriales. Sin embargo, regular la liberación de principios activos no es tarea evidente y por ello, la línea de trabajo en desarrollo en este momento se basa en modificar los primeros nanómetros de la superficie de las fibras mediante plasma de baja temperatura para así ser capaces de modular las interacciones biomaterial-fármaco y por tanto, conseguir una liberación controlada de los principios activos en el lugar preciso donde queremos actuar.

El **plasma de baja temperatura** (en adelante plasma) puede definirse como un gas total o parcialmente ionizado que contiene radicales libres, iones, fotones y otras especies excitadas que pueden reaccionar químicamente mientras el gas o partes de él están a temperaturas relativamente bajas^[2]. Debido a la elevada reactividad de las especies presentes en el plasma, éstas pueden interactuar tanto física como químicamente con la superficie del sustrato hasta una profundidad de algunas decenas de nanómetros. Como resultado del tratamiento, la superficie puede oxidarse (generando nuevos grupos químicos), y/o degradarse como resultado del efecto de ablación (eliminación de material superficial), mientras que las propiedades internas del material se mantienen intactas.

Por su acción superficial, la modificación de las propiedades químicas y/o topográficas de distintas fibras mediante plasma de baja temperatura puede alterar la adsorción de un principio activo determinado en la misma, y por ello, puede ser utilizado como una herramienta para controlar su liberación al medio.

En ello se han basado estudios recientes orientados a materiales textiles para aplicaciones tópicas^[3,4], que han mostrado que el tratamiento de plasma puede incrementar el porcentaje de principios activos modelo liberados. En particular, la funcionalización química de la superficie de fibras de poliamida 66 mediante plasma de aire permitió incorporar grupos C=O a la superficie y reducir la capa de polisiloxanos presentes en la superficie de las fibras. Esto llevó a variaciones en la hidrofilia de las fibras que, en

función de las condiciones del tratamiento de plasma permitió incrementar la liberación del fármaco estudiado (cafeína) hasta un 90% en 24h manteniendo el mecanismo de liberación.

Una estrategia similar es la que se está estudiando actualmente para obtener biomateriales textiles destinados al tratamiento de patologías tanto de tejidos blandos como de tejidos duros, que sean en sí mismos sistemas de liberación controlada de antibióticos u otros fármacos de interés localizados en la zona del implante.

Referencias

- 1) Williams D., *Biomaterials* 30 (2009) 5897.
- 2) A. Grill, *Cold Plasma in Materials Fabrication, From Fundamentals to Applications*, IEEE Press (1993) NY.
- 3) Labay C., Canal C., Garcia-Celma M.J, *Plasma Chemistry Plasma Proc.* (2010) 30, 885-896.
- 4) Labay C., Canal J.M., Canal C., *Plasma Processes Polymers* (2012) 9 (2) 165-173.

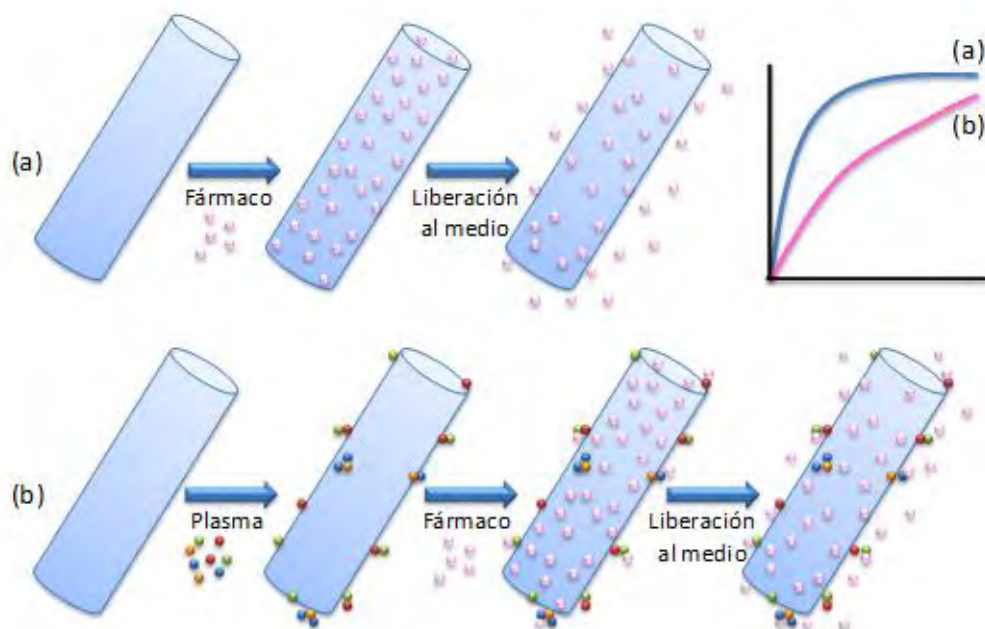


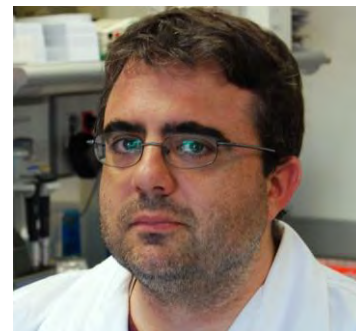
Figura 1. La introducción de nuevos grupos funcionales en la superficie de las fibras mediante tratamiento de plasma permite regular las interacciones fármaco-fibra y así conseguir modificar el perfil de liberación del fármaco al medio.

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS

Las Sirtuínas y la respuesta a estrés metabólico

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2012.11.1



Alejandro Vaquero

Grupo de Biología de la Cromatina, en el Programa de Epigenética y Biología del Cáncer (PEBC) del Instituto IDIBELL

Biografía

Licenciado en Bioquímica por la Universidad de Barcelona en el año 1994, recibió su doctorado en la misma universidad en 2000 por su trabajo en el estudio de los mecanismos implicados en la transcripción génica en *Drosophila*. Investigador posdoctoral del Howard Hughes Medical Institute (HHMI) en el laboratorio del Dr. Danny Reinberg (EEUU). A finales de 2005 retornó a España como investigador I3P (CSIC) primero, y posteriormente investigador ICREA en el IBMB-CSIC (Barcelona). En el año 2008 se incorporó al instituto IDIBELL como Jefe del laboratorio de Biología de la Cromatina, en el Programa de Epigenética y Biología del Cáncer (PEBC) del Instituto IDIBELL. Sus estudios se centran en entender la función de una familia de proteínas, las Sirtuínas, que parece ser el nexo clave entre la modulación de la memoria epigenética y la respuesta a estrés oxidativo con la preservación de la integridad genómica.

Resumen

Las Sirtuínas son una familia de proteínas que actúan como coordinadoras de la respuesta a diferentes tipos de estrés metabólico o energético. Aunque esta respuesta tiene lugar a muy diferentes niveles, en gran parte gira alrededor de la modulación de la memoria epigenética y la estructura de la cromatina para asegurar el mantenimiento de la integridad genómica.

Summary

Sirtuins are a family of proteins that act as coordinators of the response to different types of metabolic or energetic stress. Although this response occurs at many different levels, in general it is intimately linked to modulation of epigenetic memory and chromatin structure to ensure genomic integrity.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

Desde los inicios de la evolución, todos los organismos se han enfrentado al reto de poder adaptarse de una forma eficiente a las condiciones cambiantes del entorno. Entre ellas, muchas situaciones implican la aparición de desequilibrios a nivel energético o metabólico, que en muchos casos producen, por la propia naturaleza de nuestro metabolismo aeróbico, la aparición de estrés oxidativo. Los eucariotas han desarrollado un sistema de respuesta a estos tipos de estrés centrado en dos objetivos principales: cromatina y mitocondria. Durante la última década, las Sirtuínas han emergido como factores clave en la detección y la coordinación de las respuestas de estrés dirigidas a la cromatina y mitocondria (1). Las Sirtuínas fueron originalmente descritas en levadura como una nueva clase (III) de desacetilasas de histonas (HDACs). Este grupo de enzimas, las HDACs, forman parte de la maquinaria que regula las funciones asociadas a la cromatina a través de la eliminación de grupos acetilo de residuos clave de lisina principalmente en la región N-terminal de las histonas H3 y H4. La desacetilación de histonas promueve una descompactación de estas regiones de cromatina, permitiendo la accesibilidad de la actividad transcripcional a las regiones promotoras de los genes y por lo tanto, su expresión (2). Sin embargo, a diferencia del resto de HDACs, las Sirtuínas requieren la presencia de una coenzima en su reacción enzimática, NAD⁺(3). Esto llevó a especular que estas proteínas podrían detectar condiciones en las que la proporción NAD⁺/NADH estaría aumentada respecto a las condiciones normales y promover una respuesta coordinada a estas condiciones a través, entre otras cosas, del silenciamiento de ciertos genes o ciertas regiones del genoma. Un ejemplo es el control de la expresión de los genes ribosomales en el nucleolo, cuyo silenciamiento está entre los primeros eventos que se promueven en condiciones restrictivas. Hoy en día sabemos que la realidad es un poco más compleja, y que las Sirtuínas se activan en la mayoría de condiciones de estrés que implican un desequilibrio energético (estrés oxidativo, hipoxia, restricción calórica) o un daño en el genoma (estrés genotóxico)(4).

SEBBM
SEBBM

Sociedad Española
de Bioquímica y
Biología Molecular

Otro aspecto muy importante ha sido el descubrimiento de que las Sirtuínas ejercen gran parte de sus funciones a través de la desacetilación de proteínas no histónicas, modulando así algunas de las propiedades de estas proteínas dianas (actividad, afinidad, localización) y regulando las vías reguladas por éstas (5). Finalmente, también se ha identificado en las Sirtuínas una segunda actividad enzimática (ADP-ribosilación) que parece derivar de la misma reacción enzimática de desacetilación y estar presente en todas las Sirtuínas en diferentes grados, aunque su especificidad y función es en general desconocida (6).

Los mamíferos contienen siete Sirtuínas (SirT1-7), que muestran un alto grado de diversificación funcional incluyendo una amplia gama de sustratos y un patrón muy diverso de localización celular (núcleo, nucleolo, citoplasma y mitocondria). Aunque las Sirtuínas están presentes ya en procariotas, donde participan en el metabolismo de la vitamina B₁₂, en eucariotas gran parte de su función está íntimamente asociada a un papel regulador de la estructura, la expresión y el mantenimiento de la integridad del genoma (7). Esto es posible gracias a que han mantenido una especificidad por dos modificaciones pos-traduccionales de histonas o marcas, la acetilación de lisina 16 en la histona H4 (H4K16Ac) y la acetilación de lisina 9 en la histona H3 (H3K9Ac). Esto es notable, ya que la desacetilación de ambas modificaciones es necesaria para permitir la compactación de la cromatina (8). En el caso de H4K16Ac, la presencia de acetilación en este residuo ha sido asociada a una completa inhibición de la compactación de cromatina.

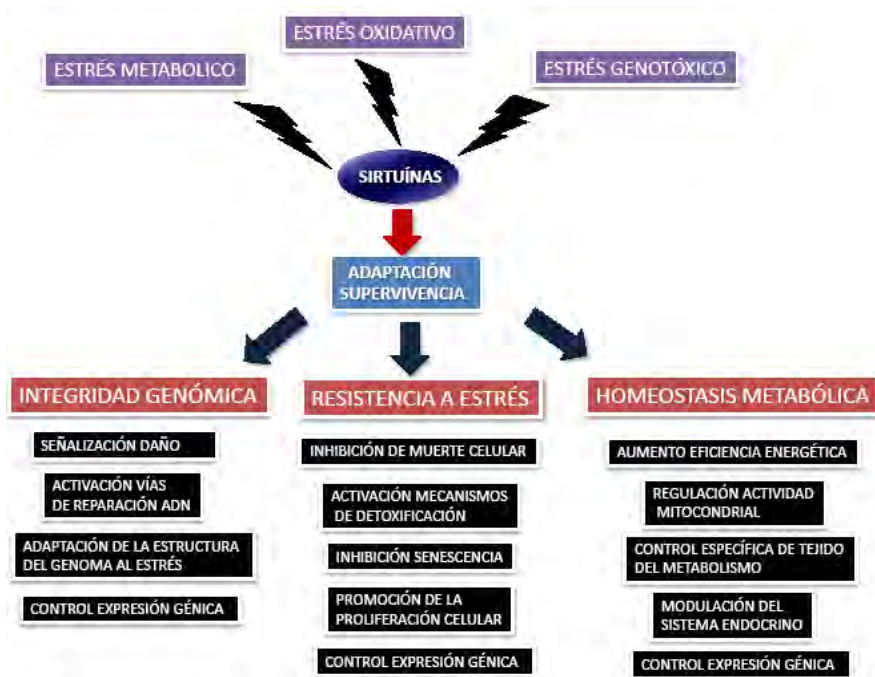
De las siete Sirtuínas sólo SirT1, 2, 6, y 7 parecen estar implicadas en la señalización de esta respuesta en la cromatina, mientras que SirT3-5 son mayoritariamente mitocondriales. Por lo que sabemos, las Sirtuínas están implicadas en una multitud de funciones que se pueden agrupar en cinco grandes bloques: i) El control de la integridad genómica (SirT1,2,6,7); ii) El mantenimiento de la homeostasis metabólica a nivel celular (SirT1,2,3,4,5,6), pero también a nivel de organismo; iii) Supervivencia en

condiciones de estrés (SirT1,2,3,6,7); iv) Papel en el desarrollo embrionario y en diferenciación celular (SirT1); y v) el control del ciclo celular (SirT2). El mecanismo por el que ejercen su papel en cromatina comprende no solo la desacetilación de marcas en histonas, pero también la regulación de otros factores como enzimas (Suv39h1, Ezh2, p300) o factores de transcripción clave para alguna vía regulatoria relacionada con esta respuesta (NF-κB, p53, FOXO, PGC-1α, Myc) (9). Aunque la información disponible acerca de estas proteínas es aún muy parcial, las evidencias sugieren que modular la función de las Sirtuínas puede ser muy beneficioso para la salud humana. Esto se refleja en su participación en una amplia gama de patologías humanas como por ejemplo el cáncer, enfermedades endocrinas como la diabetes o muchas enfermedades neurodegenerativas. La próxima década deberá ser clave para determinar si las Sirtuínas son o no una de las llaves maestras para la mejora de la vida humana.

Referencias

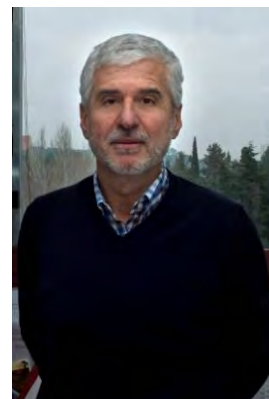
- 1) Saunders, L.R and Verdin, E. Oncogene, 26, 5489, 2007.
- 2) Vaquero, A., Sternglanz, R., and Reinberg, D., Oncogene, 26, 5505, 2007.
- 3) Imai S, Armstrong CM, Kaeberlein M, Guarente L., Nature, 403, 795-800, 2000.
- 4) Kwon HS, Ott M. Trends Biochem Sci. 33,517, 2008.
- 5) Yamamoto H, Schoonjans K, Auwerx J. Mol Endocrinol. 21(8), 1745, 2007.
- 6) Tanny JC, Dowd GJ, Huang J, Hilz H, Moazed D., Cell. 99, 735-45, 1999
- 7) Bosch-Presegue, L., Raurell-Vila, H., Marazuela-Duque, A., Kane-Goldsmith, N., Valle, A., Oliver, J., Serrano, L., Vaquero, A. Mol Cell, 42,210, 2011.
- 8) Vaquero A. Int J Dev Biol.53, 303, 2009.
- 9) Vaquero, A., and Reinberg, D., Genes Dev, 26, 5505, 2009.

Figura 1. Las Sirtuínas promueven la respuesta a estrés a diferentes niveles y a través de diferentes mecanismos.



SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



Proteínas motoras del citoesqueleto

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2012.11.2

Jose Manuel Andreu

Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC

Biografía

Jose Manuel Andreu (Valencia, 1949) estudió Biología Fundamental en la Universidad Complutense. Realizó su Tesis Doctoral (1976) con Emilio Muñoz en la Unidad de Biomembranas del Centro de Investigaciones Biológicas del CSIC (CIB), junto con una estancia en el Max-Planck-Institut de Freiburg (RFA), investigando la arquitectura molecular de la ATPasa/F1 bacteriana transductora de energía. A partir de 1978 trabajó como postdoctoral con Serge Timasheff en su laboratorio de Bioquímica Física del Department of Biochemistry, Brandeis University, USA, en las interacciones de tubulina con drogas antimitóticas. De vuelta al CIB (1981) constituyó un grupo de trabajo sobre proteínas del citoesqueleto. Este laboratorio desentrañó los mecanismos de ensamblaje de microtúbulos inducidos por taxol y otras drogas antitumorales. Ha desarrollado nuevas herramientas biofísicas y biológicas. Más recientemente, ha enfocado su actividad a la estructura, ensamblaje y evolución de las proteínas homólogas de tubulina del citoesqueleto bacteriano. Sus principales intereses científicos se centran en los mecanismos estructurales de activación funcional de las tubulinas y en la modulación de la proteína de división celular FtsZ por pequeñas moléculas con actividad antibacteriana (<http://www.cib.csic.es/tubulina>)

Resumen

El Premio Lasker en Investigación Médica Básica 2012 para Michael Sheetz, James Spudich y Ronald Vale es un reconocimiento a sus descubrimientos sobre las proteínas motoras miosina y quinesina. Las proteínas motoras son máquinas moleculares que hacen que los músculos se contraigan, llevan a cabo el transporte intracelular y permiten que las células se muevan y se dividan, transformando energía química en trabajo mecánico al desplazarse sobre filamentos de proteínas del citoesqueleto.

Summary

The 2012 Lasker Basic Medical Research Award to Michael Sheetz, James Spudich and Ronald Vale honors their early discoveries on the motor proteins myosin and kinesin. Motor proteins are molecular machines that make muscles contract, carry out intracellular transport, and are essential for cell motility and cell division. They transform chemical energy from ATP into mechanical work, sliding along cytoskeletal protein filaments.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

Las redes de filamentos formadas por las proteínas del citoesqueleto permiten a las células adoptar una variedad de formas, segregar sus cromosomas, dividirse, organizar el citoplasma y llevar a cabo movimientos coordinados. Entre éstas, las proteínas de las familias de actina y de tubulina son capaces de auto-ensamblar formando los filamentos de actina y los microtúbulos respectivamente. Ambos son estructuras polares y dinámicas capaces de producir motilidad incluso sin la asistencia de otras proteínas, por lo que se les ha denominado filamentos citomotrices (1). Además, sobre estos filamentos, como si fueran raíles, se mueven las proteínas motoras de las familias de la miosina, quinesina y dineína, un tipo de motores moleculares que convierten la energía química de la hidrólisis del ATP en trabajo mecánico. Las proteínas que forman filamentos citomotrices se encuentran tanto en procariotas como en eucariotas, mientras que las proteínas motoras aparecieron en las células eucariotas.

Los descubrimientos clásicos del mecanismo de la contracción muscular, el ensamblaje de filamentos de actina purificada, la formación reversible del huso mitótico y la ultraestructura de los cilios y flagelos, precedieron a los de las fibras del citoesqueleto. Los microtúbulos citoplásmicos, los filamentos de actina, y los filamentos de diámetro intermedio se visualizaron posteriormente mediante microscopía electrónica.

Durante los primeros años 70 se consiguió reproducir el ensamblaje de microtúbulos *in vitro* a partir de tubulina purificada. En esos años también se visualizaron mediante microscopía de fluorescencia los filamentos de actina y los microtúbulos en prácticamente todas las células eucarióticas, así como los filamentos intermedios de diversos tejidos (vimentina, queratina, neurofilamentos). Durante los años 80 asistimos a una explosión de investigación en las diversas áreas del citoesqueleto tal como se conocen actualmente, incluyendo la dinámica de los microtúbulos y microfilamentos, las numerosas proteínas asociadas a actina y a microtúbulos, la organización del huso mitótico, las interacciones de los microtúbulos con drogas antitumorales así como aspectos patológicos, y los descubrimientos de la quinesina y la dineína citoplásmica. Sin embargo, las estructuras atómicas de actina y tubulina no se resolvieron hasta 1990

y 1998 respectivamente. Por otra parte, la visualización de proteínas fusionadas a proteína fluorescente verde mediante microscopía óptica permitió poner de manifiesto la organización subcelular de las bacterias durante los 90. Estos estudios, junto con las estructuras atómicas de la proteína de división celular bacteriana FtsZ (homóloga de tubulina), MreB (2001, homóloga de actina) y otras proteínas citomotrices, han revelado la existencia del citoesqueleto bacteriano.

Los descubrimientos de James Spudich (2), Michael Sheetz (3), y Ronald Vale (4) sobre cómo las proteínas motoras transforman energía química en movimiento comenzaron hace treinta años. Sheetz y Spudich (1982) observaron el movimiento de pequeñas bolas recubiertas de miosina añadidas sobre los filamentos orientados de actina de células abiertas del alga *Nitella*. Pocos años después Kron y Spudich consiguieron producir el movimiento de filamentos fluorescentes de actina purificada sobre una superficie recubierta de la proteína motora miosina al añadir ATP. Este experimento pionero de biología sintética dio origen a los ensayos posteriores de motilidad *in vitro* con muchos otros motores moleculares utilizando pinzas ópticas. También en los 80, Robert Allen, Scott Brady y sus colegas habían observado el transporte de vesículas citoplásmicas sobre filamentos en el citoplasma extruido de axón gigante de calamar, utilizando los avances del primero en videomicroscopía de contraste interferencial, que producían unas películas espectaculares para la época. Bruce Schnapp y Tom Reese demostraron que esos filamentos del axón no eran de actomiosina, sino microtúbulos. Ronald Vale y Michael Sheetz consiguieron reconstituir el transporte de vesículas *in vitro*. A continuación demostraron que el motor podía adsorberse a superficies y producir el movimiento de microtúbulos, o adsorberse a bolas que se deslizaban sobre microtúbulos. Utilizando esos ensayos purificaron dicho motor, descubriendo una nueva proteína motora que llamaron quinesina, que se mueve hacia el extremo positivo de los microtúbulos. Posteriormente, Robert Vallee demostró que el movimiento en sentido opuesto hacia el extremo negativo de los microtúbulos lo produce la dineína citoplásmica.

El interés por el conocimiento básico de los procesos biológicos, la combinación de abordajes multidisciplinares y las oportunidades que condujeron a los descubrimientos de Spudich, Sheetz, Vale (2-4) y otros investigadores en esa época constituyen una gran lección. Estos descubrimientos dieron paso a avances que continúan en la actualidad revelando las estructuras atómicas de estas proteínas motoras y sus mecanismos de generar movimiento (figura) pero esa es ya otra historia...que quizás reciba otro premio.

Referencias

- 1) Löwe J, Amos, LA 2009. Evolution of cytomotive filaments: the cytoskeleton from prokaryotes to eukaryotes. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 41, 323–329.
- 2) Spudich JA (2012). One path to understanding energy transduction in biological systems. *Nat. Medicine* 18, viii-xii.

- 3) Sheetz MP (2012). Following nature's challenges. *Nat. Medicine* 18, xiii-xv.
- 4) Vale RD (2012). How lucky can one be? A perspective from a young scientist at the right place and the right time. *Nat. Medicine* 18, xvi-xviii.

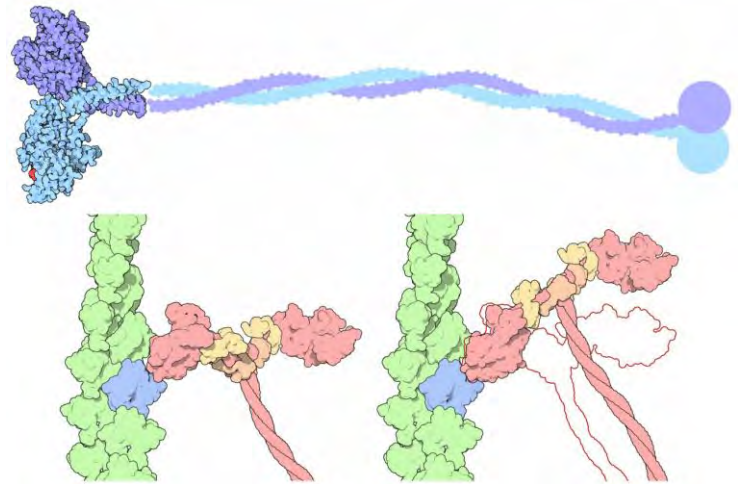


Figura. Modelo molecular de quinesina (arriba), mostrando los dos dominios motores conectados a un esquema del tallo y a los dominios de unión a la carga a transportar. Los modelos de miosina (debajo) ilustran el movimiento de sus cabezas motoras sobre un filamento de actina, que se produce al liberarse el fosfato inorgánico después de la hidrólisis del ATP. Figuras reproducidas de los artículos "Molecule of the month" por David S. Goodsell en el RCSB Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb>).

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS

Lípidos que regulan su propio metabolismo (y el ajeno)

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2012.12.1

Félix M. Goñi

Unidad de Biofísica (Centro mixto CSIC-UPV/EHU)



Biografía

Félix M. Goñi Urcelay (San Sebastián, 1951) es Doctor en Medicina y Cirugía (Navarra, 1975). Completó su formación en la Universidad de Londres (Royal Free Hospital). Ha sido Profesor Adjunto (1978-1984) y Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular (desde 1984) en la Universidad del País Vasco. En 1995-1999 fue Director de Política Científica del Departamento de Educación, Universidades e Investigación. En 1999-2000 fue Profesor Visitante en la Universidad de Victoria (British Columbia, Canada). Desde 2002 es Director de la Unidad de Biofísica, centro mixto CSIC-UPV/EHU, en Leioa. Ha sido presidente de la Sociedad de Biofísica de España (1994-1998). En 2002 recibió el Premio Euskadi de Investigación Científica.

Resumen

Las fosfolipasas C y las esfingomielinasas son potentes reguladores metabólicos, que generan diacilgliceroles y ceramidas. Su acción catalítica se ejerce en las membranas, donde interaccionan con los lípidos, que influyen en sus actividades enzimáticas. Los diacilgliceroles y ceramidas producidos suelen modificar las propiedades de la bicapa, y así la actividad de éstas y otros muchos enzimas.

Summary

Phospholipases C and sphingomyelinases are potent metabolic regulators that give rise to diacylglycerols and ceramides. Their catalytic action is exerted in membranes, where they interact with lipids, that in turn modulate the enzyme activities. The enzyme end-products diacylglycerols and ceramides can modify the bilayer properties, thus the activities of these and many other enzymes.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

Las fosfolipasas C (PLCs) son fosfodiesterasas que hidrolizan el enlace entre el glicerol y el fosfato de los glicerolípidos. Su actividad produce diacilglicerol (DAG) y una base fosforilada, que puede ser fosforilcolina, fosforilinositol u otros. Las esfingomielinasas (SMasas) catalizan una reacción similar pero en esfingolípidos, dando lugar a ceramida (Cer) y a la base fosforilada, que es fosforilcolina cuando el lípido hidrolizado es esfingomielina (SM) (Fig. 1A).

Ambos enzimas tienen en común con el resto de lipasas que su sustrato no es soluble, sino que se presenta en estado agregado (sólido), a diferencia de lo que ocurre con la mayoría de enzimas, que trabajan en disolución. Por este motivo, las lipasas presentan cinéticas y mecanismos de regulación característicos y singulares. Debido al mesomorfismo de los lípidos (los cuales pueden encontrarse en distintas fases lamelares, además de las fases micelar, hexagonal, diversas fases cúbicas, etc.) el sustrato puede adoptar propiedades físicas muy diferentes y éstas, a su vez, podrán modular la actividad enzimática. Además, algunos de los productos finales de la reacción catalizada por PLCs y SMasas (DAG y Cer respectivamente) poseen propiedades físicas muy diferentes de las de sus lípidos precursores, por lo que la propia actividad enzimática es capaz de modificar el estado físico del sustrato, lo que a su vez influirá en cualquier otra actividad enzimática posterior. Esto pone de manifiesto la extremada complejidad de las interacciones lipasa-sustrato.

Tradicionalmente PLCs y SMasas se consideraban meros instrumentos en la degradación de lípidos. Sin embargo, el descubrimiento en las últimas décadas de la potente actividad biológica del DAG y la Cer ha suscitado un interés creciente en el estudio de estas enzimas y de sus funciones en las rutas de señalización celular. Estudios llevados a cabo en los últimos veinte años han revelado una serie de interesantes propiedades de estas proteínas, y de su interacción con los lípidos de la membrana (ver revisión en [1]). Algunos aspectos llamativos de estas investigaciones se resumen a continuación.

Interacciones lípido-proteína. Las interacciones entre los lípidos y las PLCs (o enzimas relacionados) implican que la actividad enzimática: (a) está modulada por el estado físico del sustrato; (b) está también modulada por las propiedades físicas de los

lípidos no sustrato; (c) genera productos finales lipídicos que, a su vez, modifican la actividad a través de cambios en las propiedades físicas de la bicapa.

Similitudes entre los de procariontes y de eucariotas. Las PLCs bacterianas presentan semejanzas estructurales y mecánicas con las de eucariotas, y lo mismo puede decirse de las SMasas bacterianas y las SMasas neutras de mamíferos. Esas similitudes permiten la comparación de las propiedades enzimáticas entre especies y, en algunos casos, proporcionan una base estructural para estudios comparativos (Fig. 1B).

Unión a la membrana y actividad enzimática. En el estudio de las PLCs y SMasas se puede distinguir entre al menos tres procesos: la adsorción a la superficie de la membrana, la inserción del enzima en la matriz hidrofóbica (no siempre obligatoria) y la actividad hidrolítica.

Períodos de latencia. Se observan en la mayoría, si no en todos los enzimas procariontes estudiados. Hasta la fecha no se han descrito tiempos de latencia en PLCs o SMasas de eucariotas, aunque es probable que existan, puesto que los procesos de unión y activación de estos enzimas son más complejos que los de sus homólogos bacterianos. Durante el período de latencia el enzima realiza su actividad, aunque a una velocidad muy baja. Cuando los productos lipídicos finales alcanzan un cierto nivel, el cambio local en las propiedades físicas de la membrana da lugar a que el enzima cambie su cinética, y que la catálisis ocurra a velocidad máxima. Esta explosión en la actividad enzimática suele estar precedida por la aglomeración de moléculas de enzima en un punto determinado de la membrana (Fig. 1C).

Activación interfacial. La mayoría de PLCs y SMasas exhiben una activación interfacial, es decir que la relación V_{max}/K_M es mayor cuando el sustrato se encuentra en forma agregada (micelar, lamelar) que cuando está en forma monomérica. Esto implica que los enzimas poseen dominios, distintos del sitio catalítico, a través de los cuales quedan anclados a la superficie lipídica.

Carga de los lípidos y curvatura intrínseca. Los lípidos que no son sustratos de estos enzimas, y poseen una carga neta negativa, a menudo influyen en la actividad enzimática. Lo mismo puede decirse de los lípidos con una curvatura intrínseca distinta de cero. Sin embargo, no hay ningún patrón claro de activación; por ejemplo los lípidos cargados negativamente que activan las PLCs de eucariotas no tienen el mismo efecto sobre la actividad de las PLCs de procariontes. Por otro lado, los lípidos con una curvatura intrínseca negativa, como la fosfatidiletanolamina o el colesterol, ejercen un efecto activador en la mayoría de los casos, debido a que facilitan la inserción de los enzimas en la matriz hidrofóbica.

Agregación de membranas y fusión. La mayoría de PLCs y SMasas inducen agregación y fusión de vesículas. Estos cambios estructurales están provocados por la generación de DAG y/o Cer como productos finales de la actividad enzimática en la membrana (Fig. 1D, E). También existen SMasas de eucariotas que participan en procesos de fusión celular.

Referencias

- [1] Goñi F.M., Montes L.R. and Alonso A. (2012) *Prog. Lipid Res.* 51, 238-266.
- [2] Heinz D.W., Essen L.O. and Williams, R.L. (1998) *J. Mol. Biol.* 275, 635-650.
- [3] Ibarguren M., López D.J., Montes L.R., Sot J., Vasil A.I., Vasil M.L., Alonso A. and Goñi F.M. (2011) *J. Lipid Res.* 52, 635-645.
- [4] Ibarguren M., Bomans P.H.H., Frederik P.M., Stonehouse M., Vasil A.I., Vasil M.L., Alonso A. and Goñi F.M. (2010) *Biochim. Biophys. Acta* 1798, 59-64.

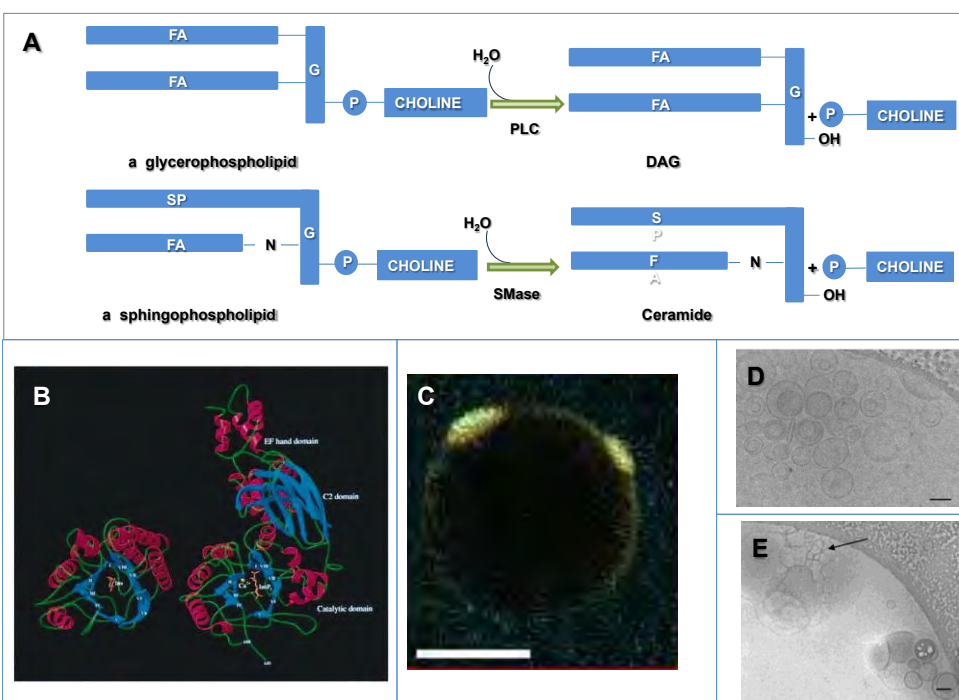


Figura 1. (A) PLCs y SMasas. FA, ácidos grasos; SP, esfingosina; G, glicerol; P, fosfato. (B) Similitud estructural entre una PI-PLC bacteriana (izquierda) y una de mamífero (derecha) [2]. (C) Agregación de moléculas de fosfolipasa (fluorescente) en vesículas concretas de una bicapa [3]. Barra: 10 μ m. (D) Vesículas antes y (E) después de haberse fusionado por efecto de una C [4]. Ver estructura en panel (B). Barra: 100 nm.

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS

El Nobel premia la reprogramación celular

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2012.12.2

Lluís Montoliu

Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC) y CIBERER-ISCIII, Madrid



Biografía

Lluís Montoliu (Barcelona 1963) es licenciado (1986) y doctor (1990) en Ciencias Biológicas por la Universidad de Barcelona. Siempre estuvo interesado en la modificación genética de organismos. Realizó su tesis en plantas, en maíz, en el CID-CSIC de Barcelona, con Pere Puigdomènech y Joan Rigau. Entre 1991 a 1995 trabajó en el DKFZ (Heidelberg, Alemania), en el laboratorio de Günther Schütz, y obtuvo los primeros ratones transgénicos con cromosomas artificiales. Entre 1995 y 1996, realizó un segundo postdoc en la UAB, en el laboratorio de Fátima Bosch, desarrollando nuevos ratones transgénicos para el estudio de la diabetes. Tras obtener plaza de investigador en el CSIC se trasladó en 1997 al Centro Nacional de Biotecnología de Madrid. Su laboratorio está interesado en comprender los mecanismos de control de la expresión génica utilizando animales transgénicos. Igualmente, ha generado diversos ratones transgénicos y mutantes para el estudio de enfermedades humanas.

Más información:

<http://www.cnb.csic.es/~montoliu/>

Resumen

La Asamblea Nobel del Instituto Karolinska de Estocolmo (Suecia) ha resuelto otorgar conjuntamente el Premio Nobel en Fisiología o Medicina de 2012 al investigador británico John B. Gurdon y al científico japonés Shinya Yamanaka por el descubrimiento de que las células adultas pueden ser reprogramadas y convertirse en pluripotentes.

Summary

The Nobel Assembly of Karolinska Institutet (Stockholm, Sweden) has decided to award the 2012 Nobel Prize in Physiology or Medicine jointly to the British scientist John B. Gurdon and the Japanese researcher Shinya Yamanaka for the discovery that mature cells can be reprogrammed to become pluripotent.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

Hace apenas 100 años la naturaleza del material genético seguía siendo una incógnita. Se creía que los diferentes tipos celulares, a medida que se diferenciaban, perdían factores que no necesitaban y solamente retenían aquellos que les eran necesarios para realizar su función. Hans Spemann, embriólogo alemán, Premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1935, discrepaba y postuló que la diferenciación celular debía progresar mediante un uso diferencial de dichos factores, sin necesidad de perder ninguno. Cada tipo celular atendería a diferentes programas de utilización de factores, lo cual resultaría en funciones celulares distintas. En 1938 Spemann propuso utilizar el núcleo de una célula adulta para reconstruir un embrión, previamente enucleado, en el inicio del desarrollo y así volver a sustentar el desarrollo de un nuevo organismo, verificando así la pluripotencia del núcleo de la célula diferenciada inicial [1].

Hans Spemann no pudo abordar el experimento, por las limitaciones técnicas de su época (la transferencia nuclear no se desarrolló hasta 1952 gracias a Robert Briggs y Thomas J. King [2]). Fue el investigador británico (Sir) John B. Gurdon, del Departamento de Zoología de la Universidad de Oxford (actualmente en el Instituto Gurdon, en Cambridge) quien demostró, por vez primera, en 1962 [3], la pluripotencia subyacente en células diferenciadas, utilizando la rana africana *Xenopus laevis*. Gurdon utilizó núcleos de células intestinales de renacuajos de *Xenopus laevis* para reconstruir embriones y con ellos obtuvo de nuevo renacuajos y hasta ranas adultas, con diversas anomalías, que resultaron ser estériles. Posteriormente, en 1966, completó el ciclo logrando obtener ranas adultas fértiles a partir de estos núcleos de células intestinales de renacuajos [4]. Ambos artículos causaron gran revuelo científico en la época, pero tuvieron un impacto muy limitado en Biomedicina.

En realidad no fue hasta treinta años más tarde, con el nacimiento de la oveja *Dolly*, descrito en 1997 en un artículo científico dirigido por los científicos escoceses del Instituto Roslin, Ian Wilmut y Keith H. Campbell [5], cuando la transferencia nuclear y la pluripotencia de los núcleos de las células adultas saltó a los mamíferos y al gran público, situando la palabra “clonación” en boca de todo el mundo y rescatando la investigación en “reprogramación” celular.

Sensu stricto Wilmut y colaboradores fueron los primeros en demostrar fielmente el postulado de Spemann, lanzado 60 años antes, al utilizar núcleos de células adultas, totalmente diferenciadas, de glándula mamaria, y no de tejidos embrionarios/larvarios

(como había utilizado Gurdon en 1962 y 1966). La transferencia nuclear en mamíferos y su uso potencial en medicina regenerativa, combinada con el aislamiento de las primeras células troncales pluripotentes embrionarias humanas [6], catapultó una explosión investigadora en reprogramación y diferenciación celular que, sin embargo, tuvo que afrontar serios conflictos éticos, promovidos por determinados grupos sociales contrarios a la utilización de embriones humanos y de células troncales pluripotentes embrionarias humanas.

En agosto de 2006 apareció un artículo sorprendente que volvió a revolucionar las investigaciones en reprogramación celular y devolvió el crédito perdido al campo, todavía trastornado tras el colosal fraude de Woo Suk Hwang en los dos años anteriores. En este artículo, Shinya Yamanaka, investigador de la Universidad de Kyoto, nacido en 1962, año en el que Gurdon publicó el primero de sus trabajos de reprogramación nuclear, demostraba con una sistematicidad y sencillez experimental aplastante que apenas cuatro eran los genes cuya expresión había que reactivar en células adultas, diferenciadas, para que adquirieran características de células troncales pluripotentes [7].

Estos cuatro genes, *Oct4*, *Sox2*, *Klf4* y *c-Myc*, obraban el milagro de transformar una célula somática adulta, diferenciada, en otra muy distinta, prácticamente indistinguible de las células troncales pluripotentes embrionarias y, por ello, con capacidad para sustentar el desarrollo de un nuevo embrión completo (en ratones) o de volver a diferenciarse a cualquier otro tejido celular, en el laboratorio (en células humanas y de ratón), sin requerir la intervención de ningún embrión, aliviando con ello la mayoría de problemas éticos que las anteriores aproximaciones experimentales en medicina regenerativa habían suscitado.

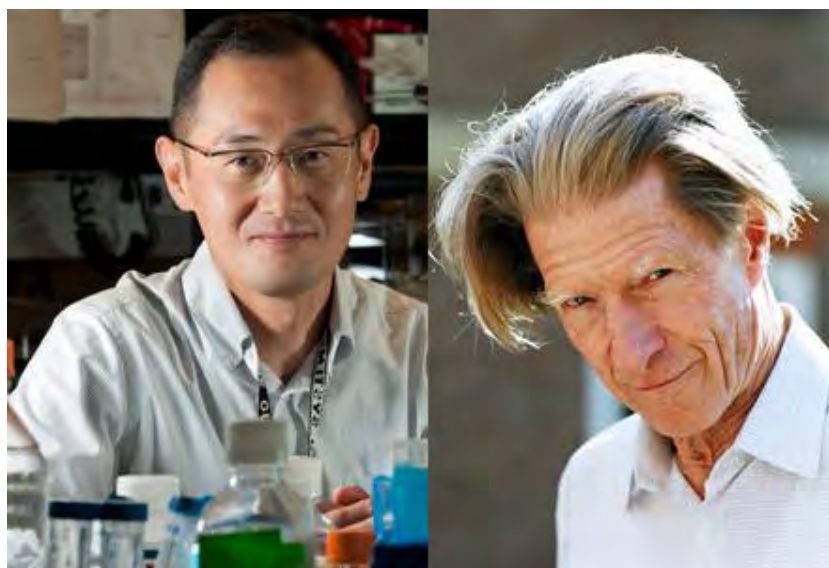
A estas células Shinya Yamanaka las denominó células troncales pluripotentes inducidas (*iPS cells*, en inglés) y por su hallazgo y por haber dilucidado los mecanismos moleculares de la reprogramación celular, ha sido galardonado, con todo merecimiento, con el Premio Nobel 2012 de Fisiología o Medicina, compartiéndolo con John B. Gurdon. Ambos investigadores habían compartido ya, en 2009, el prestigioso Premio Albert Lasker de

investigación médica básica, por sus descubrimientos en reprogramación nuclear.

La Academia sueca olvidó incluir en este Premio Nobel 2012 a algún miembro relevante del Instituto Roslin, fuera Ian Wilmut o Keith H. Campbell, responsables de la obtención de la oveja *Dolly*. Dicho animal fue una de las noticias científicas más comentadas del siglo XX, y, sin duda, una aportación fundamental en toda la investigación biomédica en medicina regenerativa que vino a posteriori, incluidos los trabajos de Yamanaka. *Dolly* cambió la percepción social de la ciencia y trasladó el debate del progreso científico en biomedicina a la sociedad. Entristece conocer la muerte prematura de Keith H. Campbell (1954-2012), ocurrida dos días antes de que se comunicara el premio Nobel 2012, y a quien quisiera dedicar, junto a Ian Wilmut, este artículo.

Referencias

- 1.- Spemann, H. (1938) Embryonic Development and Induction (Yale University Press, New Haven).
- 2.- Briggs, R. & King, T. J. (1952) Transplantation of living nuclei from blastula cells into enucleated frogs' eggs. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 38, 455-463.
- 3.- Gurdon J.B. (1962) Adult frogs derived from the nuclei of single somatic cells. Dev. Biol. 1962, 4:256-73.
- 4.- Gurdon JB, Uehlinger V. (1966) "Fertile" intestine nuclei. Nature 210(5042):1240-1.
- 5.- Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KH (1997) Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. Nature 385(6619):810-3.
- 6.- Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. (1998) Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. Science 282(5391):1145-7.
- 7.- Takahashi K, Yamanaka S. (2006) Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. Cell 126(4):663-76.



Fotos. Shinya Yamanaka (izquierda) y John B. Gurdon (derecha), premiados con el Nobel de Fisiología o Medicina 2012 por sus descubrimientos en reprogramación celular.

Crédito/copyright de las fotos:

Foto de John B. Gurdon:

http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2012/gurdon-photo.html

Portrait of Sir John B. Gurdon.

Photo: John Overton, Brown Group, Gurdon Institute

Foto de Shinya Yamanaka

http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2012/yamanaka-photo.html

Shinya Yamanaka in his laboratory.

Photo: Gladstone Institutes / Chris Goodfellow

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS

¿Quo Vadis, Proteómica?

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2013.01.1

Jesús Vázquez

Laboratorio de Proteómica Cardiovascular, Unidad de Proteómica, Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares



Biografía Resumen

Jesús Vázquez es licenciado en Química-Física (UCM, 1982) y doctor en Bioquímica (UAM, 1986), consiguiendo el Premio Extraordinario de licenciatura y el de doctorado. Durante su estancia posdoctoral en USA y en el CBMSO (Madrid) se especializó en la química de proteínas y el estudio de biomembranas en el campo de la neurobiología. Desde entonces ha sido pionero en el desarrollo de técnicas de química de proteínas, espectrometría de masas y proteómica en España. Ha trabajado sobre los mecanismos de fragmentación de péptidos, la secuenciación de novo de péptidos y el análisis de modificaciones postraduccionales. En los últimos años ha concentrado sus esfuerzos en el desarrollo de técnicas cuantitativas de segunda generación, en algoritmos avanzados para la integración de datos cuantitativos y para biología de sistemas y en el análisis masivo de modificaciones inducidas por estrés oxidativo. Estas técnicas se han aplicado al estudio del mecanismo molecular de la angiogénesis y el estrés nitroxidativo en endotelio, de la isquemia-reperfusión y preconditionamiento en cardiomiocitos y del interactoma en la sinapsis inmunológica. Es Profesor de Investigación del CSIC y actualmente trabaja como Full Professor en el CNIC, donde dirige el laboratorio de Proteómica Cardiovascular y la Unidad de Proteómica.

La Proteómica moderna, también llamada en inglés "shotgun Proteomics" o "peptide centric Proteomics", se basa en un enfoque tecnológico de espectrometría de masas para la identificación de alto rendimiento y cuantificación de proteínas en sistemas biológicos. Avances muy recientes han demostrado que la tecnología existente ya permite la cuantificación del proteoma completo de las líneas celulares humanas, además de sugerir que, en un futuro cercano, podrán estudiarse de manera rutinaria y global todas las proteínas.

Summary

Modern Proteomics, also called "shotgun-" or "peptide centric-", is a mass spectrometry-based technological approach for the high-throughput identification and quantification of proteins in biological systems. Very recent advances have demonstrated that quantification of the complete proteome of human cell lines is possible with existing technology, and suggest that, in a near future, the global study of all the proteins will be affordable in the routine.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

De todos es sabido que las proteínas constituyen la maquinaria fundamental de la célula y que prácticamente todas las funciones biológicas están llevadas a cabo por estas moléculas. La capacidad de analizarlas en su totalidad, en su entorno natural, a gran escala y de forma sistemática abriría, pues, el camino al estudio generalizado de los mecanismos moleculares de cualquier proceso fisiológico o patológico, y a la detección de biomarcadores de diagnóstico o pronóstico de cualquier enfermedad. Pero, ¿hasta qué punto tiene la proteómica actual esta capacidad? Esta pregunta no es trivial, y hace sólo unos pocos años se consideraba un objetivo imposible de conseguir.

Muchos investigadores asocian la proteómica con la electroforesis bidimensional, que todavía constituye la técnica más poderosa para separar las proteínas de una muestra biológica y que permite obtener un "mapa" donde es posible situar gráficamente cada una de ellas. Las proteínas así separadas pueden identificarse mediante digestión triptica y posterior análisis de los péptidos obtenidos por espectrometría de masas del tipo MALDI-TOF/TOF. Pero esta estrategia, que despertó en su momento mucho entusiasmo en la comunidad científica, no permite visualizar mucho más allá del millar de proteínas, y su capacidad de identificación efectiva no supera algunos centenares. Por ello la visión que se obtiene del proteoma es muy limitada. Para hacernos una idea, se calcula que una célula humana expresa alrededor de 10.000 productos génicos diferentes, de los cuales los más relevantes suelen ser precisamente los menos abundantes.

Afortunadamente, las técnicas de proteómica de segunda generación han revolucionado este panorama. Estas técnicas sortean el escollo de trabajar con proteínas aisladas y en su lugar se concentran en el análisis masivo de los péptidos tripticos producidos a partir del proteoma completo, que son considerablemente más fáciles de manejar. De ahí su calificativo de "shotgun" o "peptide-centric proteomics". Dichos péptidos se identifican mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem, con o sin fraccionamiento previo mediante otras técnicas ortogonales, como el intercambio iónico o el isoelectroenfoco. Estas técnicas hacen un uso intensivo de la espectrometría de

masas, y el desarrollo de instrumentos híbridos de nueva generación (que combinan equipos convencionales muy robustos como cuadrupolos o trampas lineales con analizadores del tipo TOF u orbitrap de alta resolución) ha multiplicado espectacularmente el número de proteínas que se pueden identificar en un único análisis. Los equipos actuales son capaces de fragmentar cerca de 100.000 especies peptídicas en una única carrera cromatográfica, de las cuales, con un poco de habilidad, es posible identificar varias decenas de miles de péptidos, que suponen varios miles de proteínas. En el 2011 se publicó la identificación del proteoma completo de levadura (unas 4.000 proteínas) en una única carrera cromatográfica(1). Y poco después se ha conseguido la cobertura completa de dos líneas celulares humanas (>10.000 proteínas)(2,3). Estos resultados demuestran, por primera vez, que el proteoma entero de células humanas está al alcance de la tecnología actual. Además, la combinación de estas técnicas con estrategias de marcaje con isótopos estables, ya sea metabólicas, químicas o enzimáticas(4-6), permiten una cuantificación relativa extremadamente precisa de la concentración de las proteínas, abriendo el camino al estudio a gran escala de las alteraciones dinámicas que tienen lugar en el proteoma en respuesta a procesos fisiopatológicos.

Es cierto que hablamos de una tecnología sofisticada y que pocos grupos consiguen acercarse a estos récords de identificación. Pero la estrategia masiva no es el único camino. De hecho, los resultados proteómicos más relevantes de los últimos años se han conseguido concentrando los estudios en sistemas menos complejos, los llamados "proteomas ricos en información", donde sin necesidad de alcanzar tamaña excelencia tecnológica se pueden conseguir coberturas muy completas. Estos subproteomas pueden obtenerse mediante una interminable lista de estrategias, que incluyen el fraccionamiento subcelular (proteoma mitocondrial, exosoma, secretoma7, "sheddoma") y la cromatografía de afinidad (fosfoproteoma), o utilizando las propiedades de unión específica de proteínas o anticuerpos (interactomas, quinomas). Otras aproximaciones ingeniosas combinan modificaciones químicas o enzimáticas con estrategias de marcaje y purificación selectivos que permiten enriquecer subpoblaciones de péptidos modificados o procesados de forma muy específica (nitrosiloma, degradoma, proteoma posicional, proteoma redox)(8).

Y las ideas no acaban ahí. Los modernos equipos son tan rápidos y tienen tanta resolución que comienza a resultar factible hacerlos funcionar de forma "ciega", programándolos para que fragmenten todas las especies peptídicas imaginables. Se obtiene así un compendio completo de todos los fragmentos, de donde, en teoría, sería posible reconstruir la traza de cualquier péptido y por tanto cuantificar cualquier proteína. La idea no es realmente tan descabellada y ya se han conseguido resultados prometedores (9). Y el ritmo actual con el que están evolucionando los espectrómetros de masas nos hace pensar que en un futuro más próximo de lo que parece será posible cuantificar y caracterizar absolutamente todos los componentes del proteoma humano, en cuestión de minutos. Claro que determinar la función biológica de estos componentes y de

sus modificaciones es otra historia. Que merece un capítulo aparte.

Referencias

- 1) Nagaraj, N. et al. Systems-wide perturbation analysis with near complete coverage of the yeast proteome by single-shot UHPLC runs on a bench-top Orbitrap. *Mol Cell Proteomics*, (2012) 11, M111.013722.
- 2) Beck, M. et al. The quantitative proteome of a human cell line. *Mol Syst Biol* 7, 549, doi:10.1038/msb.2011.82 (2011).
- 3) Nagaraj, N. et al. Deep proteome and transcriptome mapping of a human cancer cell line. *Mol Syst Biol* (2011) 7, 548, doi:10.1038/msb.2011.81.
- 4) Bonzon-Kulichenko, E. et al. A robust method for quantitative high-throughput analysis of proteomes by ^{18}O labeling. *Mol. Cell Proteomics* (2011) 10, M110 003335.
- 5) Jorge, I. et al. Statistical model to analyze quantitative proteomics data obtained by $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ labeling and linear ion trap mass spectrometry: application to the study of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis in endothelial cells. *Mol. Cell Proteomics* (2009) 8, 1130-1149.
- 6) Ramos-Fernandez, A., et al. Improved method for differential expression proteomics using trypsin-catalyzed ^{18}O labeling with a correction for labeling efficiency. *Mol Cell Proteomics* (2007) 6, 1274-1286.
- 7) Bonzon-Kulichenko, E. et al. Quantitative in-depth analysis of the dynamic secretome of activated Jurkat T-cells. *J. Proteomics* (2011) 75, 561-571.
- 8) Martinez-Acedo, P. et al. A novel strategy for global analysis of the dynamic thiol redox proteome. *Mol. Cell. Proteomics* (2012) 11, 800-813.
- 9) Gillet, L. C. et al. Targeted data extraction of the MS/MS spectra generated by data-independent acquisition: a new concept for consistent and accurate proteome analysis. *Mol Cell Proteomics* (2012) 11, O111.016717.

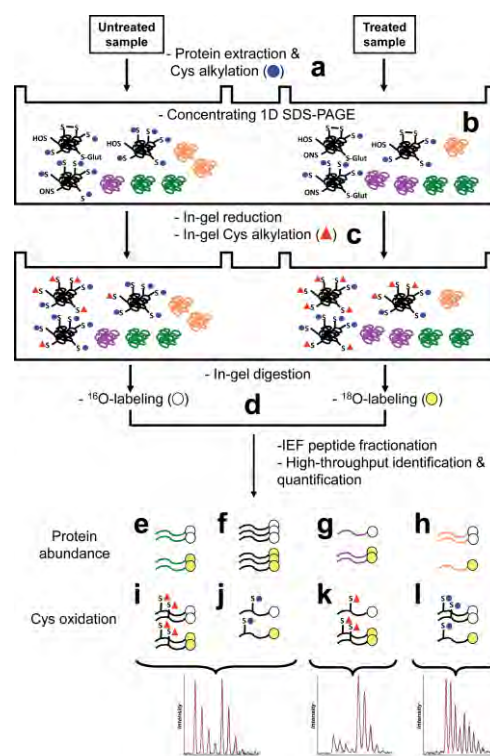
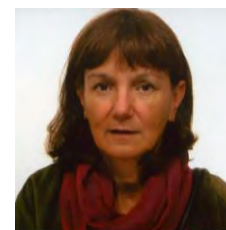


Figura. GELSILOX. Una nueva tecnología para Proteómica Redox

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



Señales celulares implicadas en la activación de la inmunidad vegetal

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2013.02.1

Carmen Castresana

Dpto. de Genética Molecular de Plantas, Centro Nacional de Biotecnología, CSIC

Biografía **Resumen**

Carmen Castresana (Madrid 1955) es Profesora de Investigación del CSIC (Consejo Superior de Investigaciones Científicas), en el Centro Nacional de Biotecnología (CNB) de Madrid, en el que es Vice-Directora desde el año 2007. Licenciada y Doctora en Biología (1984) por la Universidad Complutense de Madrid. Trabajó (1984-1987) en la Universidad Rockefeller (New York, EEUU) en la caracterización de las secuencias reguladoras de la expresión génica en respuesta a las condiciones de luz. Posteriormente, en la Universidad de Gante, Bélgica (1987-1991), estudió el proceso de silenciamiento post-transcripcional de la expresión génica y comenzó sus trabajos sobre el sistema inmune vegetal. Actualmente, dirige un grupo de investigación en el que estudia los procesos de señalización implicados en la activación de la respuesta inmune de las plantas. Ha sido (2008-2012) miembro de la Comisión del área de Biología Molecular y Biomedicina del CSIC, y vocal de las Juntas Directivas de la SEBiot y de la SEBBM.

El estudio de nuevos componentes de la inmunidad vegetal ha puesto de manifiesto la participación de una familia de señales lipídicas, denominadas oxilipinas, cuya producción y actuación es crítica para la activación de una respuesta de defensa y cuyos procesos de señalización están siendo caracterizados.

Summary

The studies aiming to identify new components of the plant immune system have unveiled the participation of a family of lipidic signals, designated as oxylipins, which activity is critical to achieve full plant resistance against pathogen infection. The actions and signalling process regulated by oxylipins are starting to be understood.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

Las plantas coexisten con una gran variedad de microorganismos patógenos, que utilizan distintas estrategias de infección para colonizar y multiplicarse en los tejidos vegetales. Sin embargo, gracias al desarrollo de un sofisticado sistema inmune, las plantas consiguen, en la mayoría de los casos, controlar y evitar la infección. El sistema inmune vegetal incluye la presencia de barreras preformadas (físicas y/o químicas), dirigidas a limitar la entrada de los patógenos en la planta, y la activación de una respuesta que conlleva la producción de compuestos antimicrobianos y la modificación de la pared celular, que impedirán el desarrollo de los patógenos y su progresión en los tejidos infectados. La activación de estas defensas no se limita a los tejidos infectados, sino que se induce, también, en tejidos alejados de los puntos de infección, protegiendo a la planta frente a infecciones secundarias. Asimismo, cabe mencionar, que a diferencia de otros organismos, las plantas no disponen de células inmunes especializadas, sino que la mayor parte de ellas parecen tener la capacidad de activar alguna forma de defensa.

En los últimos años, la utilización de la especie modelo *Arabidopsis thaliana*, ha ampliado substancialmente nuestro conocimiento acerca del sistema inmune vegetal. Esto incluye la identificación de los receptores que perciben la presencia de los patógenos, la caracterización de las rutas de señalización que conectan el reconocimiento del patógeno con la activación de la respuesta de defensa, y la identificación de tres moléculas de pequeño tamaño, el ácido salicílico (SA), el ácido jasmónico (JA) y el etileno (ET), que constituyen las hormonas de defensa de la planta, y regulan la activación de la respuesta inmune a través de rutas de señalización específicas. Cada una de estas rutas conduce a la producción de un determinado grupo de compuestos, y su activación varía dependiendo del tipo de patógeno y del daño celular causado durante la infección (Boller and Felix, 2009). Además de las hormonas de defensa, la respuesta de la planta a la infección de patógenos, incluye la participación de rutas de señalización reguladas por hormonas tales como brasinosteroides, auxinas, giberelinas, citoquininas, ácido abscísico, que sirven otros propósitos, igualmente importantes para la supervivencia de la planta, tales como la redistribución de los

recursos, el control de la muerte celular, la regulación del estrés hídrico y la modificación de la arquitectura de la planta. Todas estas rutas de transducción interactúan entre sí, de forma agonista o antagonista, estableciendo una red compleja de señalización que permite a la planta regular de forma precisa la respuesta a un determinado patógeno (Robert-Seilaniantz et al., 2011).

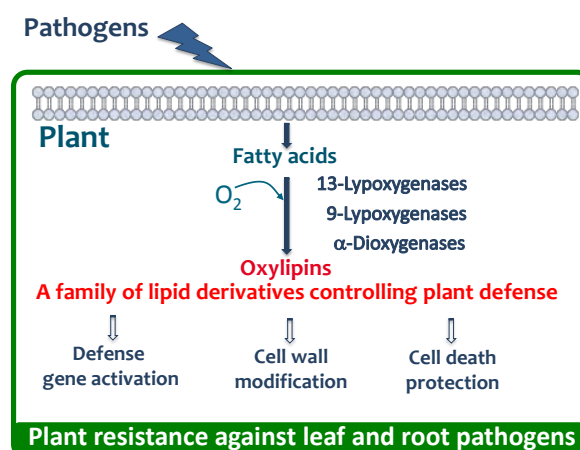
Además de las hormonas mencionadas, los estudios dirigidos a la identificación de nuevos componentes de la inmunidad vegetal han puesto de manifiesto la participación de una familia de señales lipídicas, denominadas oxilipinas, cuya producción y actuación es crítica para la activación de una respuesta de defensa. La biosíntesis de las oxilipinas se realiza a través de rutas enzimáticas complejas, que se inician por la acción de enzimas con actividad lipoxigenasa (9-LOX y 13-LOX) o α -dioxigenasa (α -DOX). Estos enzimas catalizan la oxigenación de ácidos grasos, produciendo hidroperóxidos reactivos que sufren transformaciones secundarias, por la acción de enzimas adicionales, dando lugar a una amplia familia de derivados lipídicos, de distinta estructura molecular, que ejercen acciones diversas para proteger los tejidos vegetales.

Estudios realizados en nuestro laboratorio han demostrado la participación de las rutas de síntesis de oxilipinas iniciadas por la acción de los enzimas 9-Lipoxigenasas y α -dioxigenasas, en la respuesta de la planta frente a la infección de bacterias patógenas, en donde su actuación coordinada es necesaria, tanto para la protección de los tejidos infectados (defensa local), como de los tejidos sistémicos, alejados de los puntos de infección (defensa sistémica) (Vicente et al., 2012). De especial interés para nuestro trabajo ha sido la demostración de que las oxilipinas caracterizadas participan en los tres niveles de defensa **-pre-invasión, defensa local, y defensa sistémica-** inducidos en *Arabidopsis* frente a la bacteria virulenta *Pseudomonas syringae* pv *syringae* DC3000, en donde los compuestos examinados intervienen en procesos tales como, el control del estrés oxidativo, la peroxidación lipídica y la homeostasis hormonal (López et al., 2011). Además, nuestros estudios han puesto de manifiesto que las raíces de plantas sanas, no infectadas, contienen altos niveles de actividad 9-Lipoxigenasa y α -dioxigenasa que podrían participar en la protección de la planta frente a los patógenos del suelo (Vellosillo et al., 2007). Estos resultados sustentan nuestro interés en el estudio de estos compuestos, así como en los procesos de defensa en los que intervienen y en los mecanismos moleculares que determinan su acción. El estudio de estos procesos nos permitirá profundizar en el conocimiento de la maquinaria molecular que actúa en distintas barreras de defensa para limitar la invasión y la proliferación de los patógenos en la planta. Los resultados de estos estudios proporcionarán, además, nuevas herramientas con potencial biotecnológico para mejorar la tolerancia de las plantas frente a la infección de los microorganismos patógenos.

Referencias

- 1) Boller T, Felix G (2009). A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annu Rev Plant Biol* 60: 379-406.
- 2) Robert-Seilaniantz, A., Grant, M., Jones, J.D.G. (2011). Hormone crosstalk in plant disease and defense. *Annual Review of Phytopathology* 49:317-43.
- 3) Vicente, J., Cascón, T., Vicedo, B., García-Agustín, P., Hamberg, M., Castresana, C. (2012). Role of 9-Lipoxygenase and α -Dioxygenase oxylipin pathways as modulators of local and systemic defense. *Molecular Plant*, 5, 914-928.
- 4) López, M.A., Vicente, J., Kulasekaran, S., Vellosillo, T., Martínez, M., Irigoyen, M.L., Cascón, T., Bannenberg, G., Hamberg, M., Castresana, C. (2011). Antagonistic role of 9-lipoxygenase-derived oxylipins and ethylene in the control of oxidative stress, lipid peroxidation and plant defence. *The Plant Journal*, 67, 447-458.
- 5) Vellosillo, T., Martínez, M., López, M.A., Vicente, J., Cascón, T., Dolan, L., Hamberg, M. and Castresana, C. (2007). Oxylipins produced by the 9-lipoxygenase pathway in *Arabidopsis* regulate lateral root development and defense responses through a specific signaling cascade. *The Plant Cell*, 19 (3) 831-46.

Figura 1. Las oxilipinas: una familia de señales lipídicas que participa en la activación de la respuesta de defensa de las plantas frente a la infección de microorganismos patógenos.



SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



Los receptores acoplados a proteínas G: de la función a la estructura – El premio Nobel de Química 2012

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2013.03.1

Jesús Giraldo

Instituto de Neurociencias y Unidad de Bioestadística, Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona

Biografía

Jesús Giraldo (JG) se graduó en Química en la Universidad Autónoma de Barcelona (UAB). En 1987 se incorporó a la Unidad de Bioestadística de la Facultad de Medicina (UAB) como profesor ayudante de clases prácticas. En 1992 obtuvo el doctorado en Química (UAB) con un trabajo de tesis que versaba sobre los mecanismos de activación e inhibición del receptor H2 de la histamina [miembro de la clase A de los receptores acoplados a proteínas G (GPCRs)] por agonistas y antagonistas, respectivamente. En 1997 pasó a ser Profesor Titular de Bioestadística de la Facultad de Medicina (UAB), donde ha continuado sus estudios sobre las funciones de receptores y enzimas. JG forma parte del Instituto de Neurociencias (UAB) donde dirige el Laboratorio de Farmacología de Sistemas y Bioinformática. Durante este último período su investigación se ha centrado principalmente en los mecanismos de transducción de señales de los GPCRs, desarrollando una metodología original en el campo de la teoría de receptores.

Resumen

La concesión del Premio Nobel de Química 2012 a Robert J. Lefkowitz y Brian K. Kobilka por sus estudios sobre los receptores acoplados a proteínas G distingue dos carreras investigadoras paralelas, principalmente sobre aspectos funcionales la primera y estructurales la segunda, fundamentales para el conocimiento del mecanismo celular de transducción de señales.

Summary

The award of the 2012 Nobel Prize in Chemistry to Robert J. Lefkowitz and Brian K. Kobilka for their studies in G protein-coupled receptors acknowledges two parallel research careers, the first devoted mostly to functional aspects and the second to structural ones, which have been of fundamental importance for the understanding of the signal transduction mechanism in cells.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

La Real Academia Sueca de las Ciencias ha concedido el premio Nobel de Química 2012 a Robert J. Lefkowitz y Brian K. Kobilka por “sus estudios sobre los receptores acoplados a las proteínas G”.

Los receptores acoplados a las proteínas G (GPCRs) son proteínas integrales de membrana responsables de la transducción de una amplia variedad de señales del exterior al interior de la célula. La estructura común a todos ellos es la presencia de siete hélices que atraviesan la membrana celular, unidas por lazos intra- y extracelulares. Estos receptores, que representan aproximadamente un 2% del genoma humano, son cruciales para el buen funcionamiento de los organismos por los estímulos y funciones fisiológicas que regulan. Los GPCRs detectan y procesan señales asociadas a la percepción del entorno exterior, como la visión, el gusto y el olfato, además de intervenir en procesos regulados por ligandos endógenos de estructura molecular muy diversa, como aminas biogénicas, aminoácidos, péptidos y lípidos. Un amplio espectro de enfermedades –inmunológicas, cardiovasculares, metabólicas, neurodegenerativas, psiquiátricas y oncológicas– está relacionado con el funcionamiento anómalo de estos receptores, lo que los convierte en la familia de dianas terapéuticas más importante de la industria farmacéutica.

El proceso de transducción de señales se inicia con la unión de una molécula (una hormona, un neurotransmisor, un agonista, en general) o primer mensajero al receptor, en un centro de unión específico del mismo –el centro ortostérico. Las interacciones físico-químicas entre el agonista y el receptor provocan un cambio conformacional en éste que permite la unión y activación de una proteína G. Las proteínas G son trómeros (G $\alpha\beta\gamma$) que reconocen GDP. La activación de la proteína G por el receptor conlleva el cambio de GDP por GTP y la rotura del trómero en dos unidades, G α -GTP y G $\beta\gamma$, capaces cada una de ellas de proseguir el proceso de transducción de señales, con la activación de enzimas y canales iónicos y la generación de segundos mensajeros.

Robert Lefkowitz (Duke University Medical Center) inició su investigación en los GPCRs a principios de los 70. En aquel entonces, la existencia de receptores como entidades discretas formando parte de un sistema de señalización incluyendo enzimas y segundos mensajeros era un tema controvertido. Sus primeros trabajos se dirigieron al desarrollo

de técnicas de unión de radioligandos a receptores α - y β -adrenérgicos con el objeto de demostrar de manera directa la existencia de estos receptores y sus respuestas ante situaciones fisiológicas y patológicas. A principios de los 80 consiguió purificar los cuatro subtipos de receptores adrenérgicos (véase revisión en [1]) y, en 1984, reconstruir, a partir de sus tres componentes esenciales –el receptor (β 2-adrenérgico), la proteína G (Gs) y el enzima catalítico (adenilil ciclasa)- el sistema de transducción de señales asociado a los GPCRs [2]. En 1986 participa en la resolución por clonación molecular de la estructura primaria del receptor β 2-adrenérgico [3]. El análisis de su secuencia de aminoácidos identificó la presencia de siete dominios hidrofóbicos transmembrana. Esta característica, que se había observado previamente en rodopsina (el GPCR implicado en el proceso de la visión), se confirmó posteriormente con la clonación de otros receptores, lo que permitió postular que el dominio de siete hélices transmembrana es común a todos los GPCRs. Otro descubrimiento destacable de Lefkowitz es el de que los GPCRs no están limitados a la vía de señalización de las proteínas G sino que existen otras como las asociadas a arrestinas, lo que aumenta la versatilidad y potencial terapéutico de estos receptores.

Brian Kobilka (Stanford University School of Medicine) inició su investigación en los GPCRs a mediados de los 80, participando como miembro del grupo de Lefkowitz en la clonación del receptor β 2-adrenérgico [3]. Las contribuciones más destacables de Kobilka han sido en el ámbito estructural, dando lugar a la cristalización de un número significativo de GPCRs. Para ello, fue necesario desarrollar metodologías innovadoras en ingeniería y cristalización de proteínas.

Si distinguimos la rodopsina, el GPCR activado por la luz y cuya estructura cristalina fue determinada por Palczewski en el año 2000 [4], de los GPCRs activados por ligandos difusibles, el número de estructuras de estos últimos ha experimentado un crecimiento acelerado a partir de las primeras estructuras resueltas en 2007 [5,6]. Especialmente destacable ha sido la determinación estructural de un complejo agonista-receptor-proteína G, que ha permitido identificar sin ambigüedad la conformación activa de un GPCR [7].

El previsible incremento de estructuras a corto plazo ayudará a una mejor comprensión de los mecanismos moleculares de activación e inhibición de estos receptores, especialmente en el entorno extremadamente complejo en el que ahora nos encontramos: multiplicidad de centros de unión (centros alostéricos cuya ocupación modula positiva o negativamente la actividad del centro ortostérico), multiplicidad de vías de señalización para un mismo receptor (varias proteínas G y otras proteínas como las arrestinas pueden ser activadas por un mismo receptor dependiendo del ligando) y homo- y heteroligomerización entre los receptores. Por su complejidad y presencia en múltiples procesos fisiológicos, los GPCRs constituyen un sistema ideal tanto en investigación básica –biología, farmacología y química computacional- como en investigación aplicada –a través de la búsqueda de fármacos más potentes y seguros.

Referencias

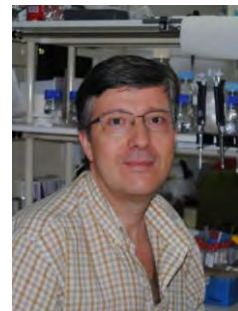
- 1) Dohlman, H. G. et al. (1991) Model systems for the study of seven-transmembrane-segment receptors. *Annu. Rev. Biochem.* 60, 653-688.
- 2) Cerione, R. A. et al. (1984) Reconstitution of a hormone-sensitive adenylate cyclase system. The pure beta-adrenergic receptor and guanine nucleotide regulatory protein confer hormone responsiveness on the resolved catalytic unit. *J. Biol Chem.* 259, 9979-9982.
- 3) Dixon, R. A. et al. (1986) Cloning of the gene and cDNA for mammalian beta-adrenergic receptor and homology with rhodopsin. *Nature* 321, 75-79.
- 4) Palczewski, K. et al. (2000) Crystal structure of rhodopsin: A G protein-coupled receptor. *Science* 289, 739-745.
- 5) Cherezov, V. et al. (2007) High-resolution crystal structure of an engineered human beta2-adrenergic G protein-coupled receptor. *Science* 318, 1258-1265.
- 6) Rasmussen, S. G. et al. (2007) Crystal structure of the human beta2 adrenergic G-protein-coupled receptor. *Nature* 450, 383-387.
- 7) Rasmussen, S. G. et al. (2011) Crystal structure of the beta(2) adrenergic receptor-Gs protein complex. *Nature* 477, 549-557.



Figura. Estructura cristalina del complejo receptor β 2 adrenérgico-proteína Gs (Nature 477:549-555 (2011)).

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



El factor de crecimiento nervioso seis décadas después

Artículo especial en memoria de Rita Levi-Montalcini

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2013.03.2

José María Frade
Instituto Cajal, CSIC

Biografía

José María Frade (Madrid, 1966) es licenciado en Ciencias Biológicas por la Universidad Complutense de Madrid y doctor en Ciencias por la Universidad Autónoma de Madrid (1994). Realizó su tesis doctoral en la influencia de las proteínas de la matriz extracelular sobre la neurogénesis, dirigida por Alfredo Rodríguez-Tébar. Durante 1995 trabajó en el Instituto Cajal estudiando el papel de las neurotrofinas en la diferenciación neuronal. Entre 1996 y 1998 trabajó con Yves-A. Barde en el Instituto Max-Planck de Neurobiología, demostrando la inducción de apoptosis por NGF a través del receptor p75NTR. A finales de 1998, regresó al Instituto Cajal para trabajar sobre la reactivación del ciclo celular en neuronas provocada por p75NTR. En agosto de 2000, obtuvo una plaza de Científico Titular. En la actualidad es Investigador Científico del Instituto Cajal donde estudia la regulación del ciclo celular en neuronas durante el desarrollo del sistema nervioso y en situaciones patológicas.

Resumen

El 30 de diciembre de 2012 falleció Rita Levi-Montalcini con 103 años de edad. Rita fue descubridora del primer factor de crecimiento conocido, el NGF, por lo que fue laureada con el Premio Nobel de Medicina en 1986. Desde su descubrimiento, este factor ha sido fuente constante de sorpresas.

Summary

Rita Levi-Montalcini passed away on December 30th, 2012, at the age of 103 years. Rita discovered the first trophic factor in being characterized, the nerve growth factor (NGF). For this discovery she was laureated in 1986 with the Nobel Prize of Medicine. During the last six decades NGF has been a constant source of surprises.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

El factor de crecimiento nervioso (NGF, del inglés *nerve growth factor*) fue descubierto y caracterizado a principios de los años cincuenta del siglo pasado por Rita Levi-Montalcini (1), neurocientífica laureada con el Premio Nobel de Medicina en 1986 por dicho descubrimiento. Rita ha fallecido recientemente a la edad de 103 años, trabajando incansablemente como el primer día (2). El presente artículo es un homenaje a su memoria como precursora de un área de investigación crucial para la Neurobiología.

Rita Levi-Montalcini trabajó inicialmente en Italia, su país natal, tratando de entender el mecanismo que ajusta el número de neuronas sensoriales al tamaño del órgano inervado durante el desarrollo embrionario. La idea prevalente a principios del siglo XX era que los tejidos diana “instruían” de algún modo a los ganglios sensoriales para que se generase el número apropiado de neuronas. Rita mostró que esta visión era errónea al demostrar que las neuronas se producen en número mayor del necesario y su número se ajusta por eliminación de las sobrantes mediante lo que se ha denominado muerte neuronal programada. Rita pudo demostrar posteriormente la existencia de un factor trófico en cantidad limitante que permite la supervivencia de solo aquellas neuronas sensoriales que son necesarias. Este factor fue denominado NGF.

Un avance significativo en el estudio del NGF fue la identificación de dos fuentes naturales de éste: las glándulas salivales del ratón y el veneno de serpiente. La facilidad de obtención de este factor (3) permitió la identificación por distintos laboratorios de sus receptores de membrana (4). Para ello se empleó NGF marcado radioactivamente con ¹²⁵I, lo cual permitió caracterizar bioquímicamente los distintos tipos de receptores que existían. Los datos obtenidos demostraron que las neuronas sensoriales y simpáticas poseen un número limitado de receptores de alta afinidad y gran cantidad de receptores de baja afinidad, de los cuales se ignoraba su identidad molecular. El primer receptor de NGF en ser caracterizado molecularmente, a mediados de los años 80, fue denominado inicialmente NGFR (del inglés *nerve growth factor receptor*). Se trataba de una molécula de membrana de 75 kDa, cuyo ADNc se identificó en 1986 (5). Pronto se vio que este receptor carecía de dominios catalíticos, por lo que era una incógnita el mecanismo por el que ejercía sus efectos en el interior de las células. La demostración posterior de que este receptor podía interactuar con todas las neurotrofinas complicó aún más su signi-

ficado biológico. Su capacidad receptora múltiple hizo que fuese rebautizado como receptor p75 común de las neurotrofinas (p75^{NTR}, del inglés p75 *neurotrophin receptor*). El descubrimiento a principios de los años 90 de que el receptor tirosina quinasa TrkA era el receptor neurotrófico específico de NGF (6), junto con la ausencia de mecanismos conocidos para la transducción de la señal de p75^{NTR}, se tradujeron en la idea de que p75^{NTR} colaboraba con TrkA para generar el receptor de alta afinidad caracterizado años atrás. Por su parte, p75^{NTR} sería el receptor de baja afinidad. Las distintas funciones conocidas en ese momento para el NGF, que incluían la supervivencia y diferenciación neuronal y la nocicepción, se vincularon directamente con TrkA, mediadas por las tres vías clásicas de los receptores tirosina quinasa: la activación de Ras, de PI3K/Akt y de PLCγ (ver Figura).

Un cambio copernicano en la visión del NGF fue el descubrimiento a mediados de los años 90 de su capacidad inductora de muerte celular (7). Este concepto fue recibido con gran sorpresa, pues el NGF era conocido como factor neurotrófico desde hacía más de cuarenta años. Se vio que la capacidad apoptótica del NGF estaba mediada por el receptor p75^{NTR}, que en esos años ya era conocido por ser el primer miembro de la familia de "receptores de muerte" (o *death receptors*) tales como FasR y el receptor de TNFα (TNFR). No obstante, el mecanismo inductor de apoptosis de p75^{NTR} difiere de la ruta clásica de FasR/TNFR pues no forma trímeros ni activa caspasa-8. En este sentido, se ha demostrado que p75^{NTR} induce la ruta de JNK para favorecer la muerte neuronal. Durante los primeros años del presente siglo se demostró que la molécula inductora de apoptosis a través de p75^{NTR} era realmente proNGF (ver figura), la forma inmadura de NGF preponderante en el sistema nervioso. ProNGF, induce apoptosis a través de p75^{NTR} ayudado por el correceptor Sortilina, en tanto que la forma madura de NGF, carente del péptido pro, induce su efecto trófico a través del receptor TrkA, un efecto que es potenciado por el propio p75^{NTR}.

Otra sorpresa reciente ha sido descubrir que el NGF puede regular el ciclo mitótico tanto en células neurales como no neurales. Este efecto puede ser mediado por TrkA, pero también por p75^{NTR}, cuyo dominio intracelular interacciona con factores de transcripción reguladores del ciclo celular. De hecho, la capacidad de p75^{NTR} para translocar su dominio intracelular al núcleo facilita esta función. La capacidad de proNGF/p75^{NTR} para inducir la duplicación del ADN en neuronas, demostrada recientemente por nuestro laboratorio (8), se traduce en la existencia de poblaciones definidas de neuronas tetraploides en el cerebro normal.

Referencias

- 1) http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/febrero-2012---rita-levi-montalcini-_640
- 2) Manca A, Capsoni S, Di Luzio A, Vignone D, Malerba F, Paoletti F, Brandi R, Arisi I, Cattaneo A, Levi-Montalcini R (2012). Nerve growth factor regulates axial rotation

during early stages of chick embryo development. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 109: 2009-2014.

- 3) Bocchini V, Angeletti PU (1969). The nerve growth factor: purification as a 30,000-molecular-weight protein. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 64: 787-94.
- 4) Frade JM (2005) Las neurotrofinas y sus receptores. *Mente y Cerebro* 14: 10-15.
- 5) Chao MV, Bothwell MA, Ross AH, Koprowski H, Lanahan AA, Buck CR, Sehgal A (1986). Gene transfer and molecular cloning of the human NGF receptor. *Science* 232: 518-521.
- 6) Klein R, Jing SQ, Nanduri V, O'Rourke E, Barbacid M (1991). The trk proto-oncogene encodes a receptor for nerve growth factor. *Cell* 65: 189-197.
- 7) Frade JM, Rodríguez-Tébar A, Barde YA (1996). Induction of cell death by endogenous nerve growth factor through its p75 receptor. *Nature* 383: 166-168.
- 8) Morillo SM, Escoll P, de la Hera A, Frade JM (2010). Somatic tetraploidy in specific chick retinal ganglion cells induced by nerve growth factor. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 107: 109-114.

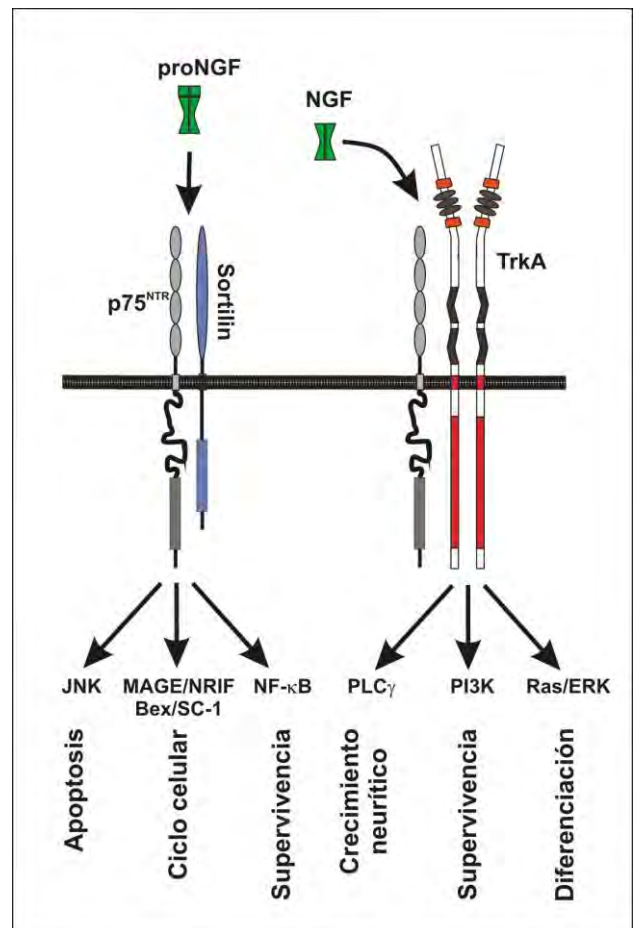


Figura. Esquema de las rutas de señalización y los efectos fisiológicos ejercidos por el proNGF y su forma madura, NGF, a través de sus los receptores p75^{NTR} y TrkA. La señalización apoptótica de proNGF requiere la presencia del correceptor Sortilina. p75^{NTR} coopera con TrkA en la señalización neurotrófica de NGF.

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



La enfermedad de Alzheimer

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2013.03.3

Jesús Ávila

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, CSIC-UAM

Biografía Resumen

Jesús Avila es Profesor del Centro de Biología Molecular Severo Ochoa en Madrid, España. Ha realizado diferentes trabajos en los campos de las Neurociencias y de la Biología Celular. Más concretamente ha investigado en procesos de degeneración neuronal, fundamentalmente relacionados con la enfermedad de Alzheimer y, paralelamente, en aspectos relacionados con la reparación de axones dañados. Algunos de sus resultados más relevantes guardan relación con la descripción de mecanismos para la interacción de las proteínas asociadas a los microtúbulos, procesos que puede favorecer la estabilización de los microtúbulos de una neurona; la caracterización de la proteína asp, una proteína involucrada en la regulación del tamaño de la corteza cerebral y que puede determinar el mayor volumen de dicha corteza en los seres humanos; la descripción de que solamente la proteína tau es suficiente para la formación de los filamentos apareados helicoidales que forman los ovillos neurofibrilares que se encuentran en los cerebros de los enfermos de Alzheimer; o la descripción de la función de la proteína GSK3 en procesos neurodegenerativos.

La enfermedad de Alzheimer afecta al 1,5% de toda la población en países desarrollados y sigue avanzando exponencialmente. Es pues un importante reto el análisis de cómo podemos prevenir este proceso neurodegenerativo. Este artículo trata de cómo intentar asumir el reto.

Summary

Alzheimer's disease affects 1.5% of the population in developed countries and continues to advance exponentially. The analysis of how we can prevent this neurodegenerative disease is a major challenge. This article discusses on how to attempt this challenge.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (WHO), alrededor de 35 millones de personas en el mundo sufren hoy en día algún tipo de demencia, calculándose que cerca del 70% de los pacientes con demencia corresponden a pacientes que sufren la enfermedad de Alzheimer.

La enfermedad de Alzheimer se ha dividido en dos tipos, en base a su origen. La enfermedad de origen familiar y la enfermedad de tipo esporádico. La primera tiene una baja prevalencia, menor del 1% del total de los casos, y su origen se basa en la mutación, en determinadas regiones, de uno de los tres genes conocidos como app, ps-1 o ps-2, existiendo una clara relación causa-efecto entre la presencia de la mutación y la aparición de la enfermedad. En el caso de la enfermedad de Alzheimer de tipo esporádico existen una serie de factores de riesgo que predisponen a la aparición de la enfermedad, pero que no implican, forzosamente, el inicio del proceso degenerativo. El principal factor de riesgo es el envejecimiento. Otro factor de riesgo importante es tener una forma determinada (la 4) de un transportador del colesterol que se expresa en cerebro, la apolipoproteína ApoE.

El diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer no es fácil, pues puede confundirse con otras demencias y, en varios casos, cursa como enfermedad mixta con otros procesos neurodegenerativos. De hecho, la certeza del diagnóstico se tiene en la autopsia del paciente tras observar en su cerebro la presencia de una gran muerte neuronal y de dos estructuras aberrantes, las placas seniles y los ovillos neurofibrilares. Las placas seniles están compuestas de un péptido (el péptido beta amiloide) que es un fragmento de la proteína APP que se codifica por el gen app. Mutaciones en este gen que facilitan la expresión y posterior ruptura de la proteína APP para dar lugar a la aparición del péptido beta amiloide, son, como se ha indicado, causa de la aparición de la enfermedad de Alzheimer de tipo familiar. Este hecho, y el que las mutaciones en los genes ps-1 y ps-2 puedan también facilitar la aparición del péptido beta amiloide, sugirieron que dicha aparición podría ser el primer paso para empezar el proceso que da lugar a la enfermedad de Alzheimer. Sin embargo, no todas las mutaciones en el gen ps-1 promueven un incremento en la presencia del péptido beta amiloide y sin embargo dan lugar también a la aparición de demencia. Por ello, se empezó a analizar si el componente de los ovillos neurofibrilares podría estar igualmente implicado en el desarrollo de la enfermedad.

Hace ya mucho tiempo que se conoce que el componente fundamental de los ovillos es la proteína del citoesqueleto conocida como proteína tau, generalmente fosforilada en los

agregados que forman los ovillos. También se conoció que mutaciones en el gen de tau pueden dar lugar a la aparición de demencia en el ser humano. Así pues se está estudiando la implicación de ambos tau y péptido amiloide en la enfermedad de Alzheimer. En el caso de la proteína tau se está estudiando como sus modificaciones pueden afectar a otras demencias, sin placas, conocidas como tauopatías.

La enfermedad de Alzheimer empieza con la pérdida de memoria y posteriormente aparece la demencia. Basados en la pérdida de memoria se han desarrollado varios tipos de ratones transgénicos que intentan relacionar la presencia de un aumento de agregados de péptido amiloide o de tau fosforilado o de ambos, con una pérdida de memoria en ratones.

Algunos modelos han dado frutos y se ha podido establecer una relación entre pérdida de memoria y sobreexpresión de péptido beta amiloide, o de tau hiperfosforilado, o de la proteína quinasa que más modifica a tau, la proteína GSK3. En varios de estos modelos se ha estudiado si es posible prevenir o revertir el déficit de memoria, con algunos resultados positivos. Sin embargo, estos resultados no se han podido establecer para pacientes humanos.

Actualmente, se achaca el fracaso en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer en seres humanos al hecho de que cuando se diagnostica inicialmente la enfermedad es demasiado tarde para empezar el tratamiento, pues existe ya una gran degeneración. Sin embargo, en los resultados positivos obtenidos en ratones, el tratamiento comienza antes de la gran degeneración. Por ello, actualmente se está planteando el tratamiento en fase presintomática, antes de que empiece a existir una gran degeneración. Para ello, se pretende empezar a hacer estos tratamientos en aquellos pacientes de tipo familiar en donde se conoce, con certeza, que a partir de una determinada edad empiezan los síntomas de la enfermedad, en estadios presintomáticos.

Referencias

1. Avila, J., Lucas, J. J., Perez, M. and Hernandez, F. (2004) Role of tau protein in both physiological and pathological conditions. *Physiol Rev*, 84, 361-384.
2. Lucas, J. J., Hernandez, F., Gomez-Ramos, P., Moran, M. A., Hen, R. and Avila, J. (2001) Decreased nuclear beta-catenin, tau hyperphosphorylation and neurodegeneration in GSK-3beta conditional transgenic mice. *Embo J*, 20, 27-39.
3. Engel, T., Hernandez, F., Avila, J. and Lucas, J. J. (2006) Full reversal of Alzheimer's disease-like phenotype in a mouse model with conditional overexpression of glycogen synthase kinase-3. *J Neurosci*, 26, 5083-5090.
4. Miller, G. (2012) Alzheimer's research. Stopping Alzheimer's before it starts. *Science*, 337, 790-792.

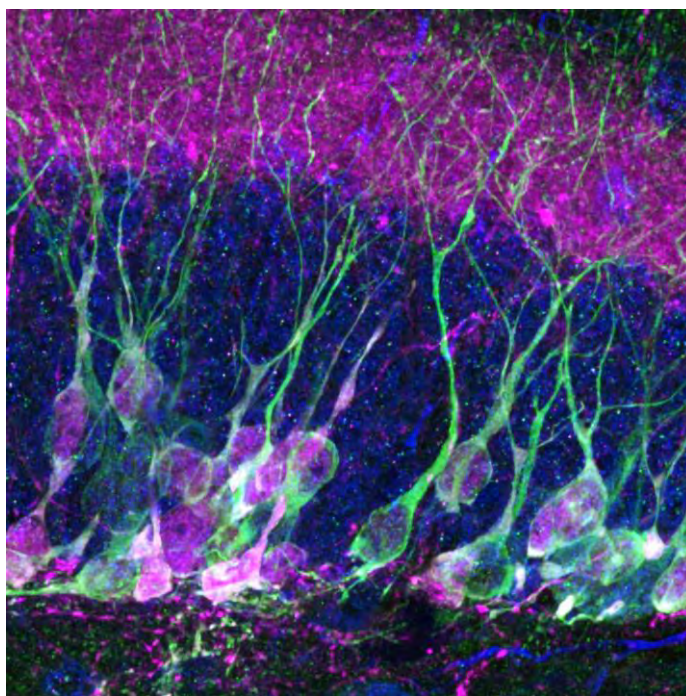


Figura. Bosque de información, por Almudena Fuster Matanzo. En el hipocampo, estructura cerebral encargada de la memoria y el aprendizaje, tiene lugar la formación de nuevas neuronas en el adulto (marcadas en verde). Éstas conviven con las neuronas más antiguas (en azul), y su formación es estimulada ante diferentes señales como el ejercicio constituyendo, además, uno de los principales mecanismos de acción de los fármacos antidepresivos. El proceso de formación implica la progresión a través de distintos pasos y la expresión de diferentes marcadores como por ejemplo, la calretinina, marcador de neurona inmadura (células de color rosa). La integración de las nuevas neuronas permite la codificación de nuevas memorias. El conjunto de neuronas antiguas con neuronas nuevas da una imagen como la que observamos, como si de un bosque de información se tratase.

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



El papel regulador de la cromatina en la transcripción

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2013.04.1

Luis Franco

Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Valencia

Biografía Resumen

Doctor en Ciencias Químicas por la Universidad Complutense en 1971, realizó una estancia postdoctoral en el Royal Cancer Hospital de Londres, en la que se inició en el estudio de la estructura y función de la cromatina. En la actualidad sigue trabajando en ese tema, con especial énfasis en el estudio de las modificaciones epigenéticas de la cromatina en diversos estados patológicos. Después de ocupar varios puestos docentes en la Universidad Complutense (Profesor Adjunto y Profesor Agregado) se trasladó en 1981 como Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular a la Universidad de Valencia (Estudi General). Es Académico de número de la Real Academia de Ciencias de España y de la Real Academia de Medicina de la Comunidad Valenciana.

En la cromatina el DNA envuelve un octámero de histonas formando nucleosomas, que se asocian para dar estructuras de orden superior. Esta organización supone un obstáculo para la transcripción. Pero la estructura de la cromatina es dinámica y cambia para permitir el acceso a elementos reguladores ocultos, en respuesta a marcas epigenéticas específicas en el DNA o en las histonas. De ese modo, la cromatina desempeña un papel regulador.

Summary

In chromatin DNA wraps a histone octamer to form the nucleosomes, which further associate in higher order structures. This organisation represents an obstacle to transcription. Nevertheless, the chromatin structure is a dynamic one, and its changes give access to hidden sequence elements in response to distinctive epigenetic marks in DNA or histones. Therefore, chromatin plays a regulatory role.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

El DNA de una célula humana tiene una longitud cercana a 2 m y, sin embargo, está encerrado en el núcleo, cuyo diámetro es aproximadamente de 6 μm , es decir, unas 300.000 veces más pequeño. ¿Cómo se consigue este inmenso empaquetamiento? Una primera aproximación sería decir: enrollando el DNA, igual que en un carrete se pueden enrollar más de 300 m de hilo. Pero, además de que el tamaño del carrete solo es unas 10.000 veces menor que la longitud del hilo, en el caso del DNA hay otro problema: los grupos fosfato hacen que posea carga negativa distribuida a lo largo de la doble hélice. Para empaquetarlo, hay que superar la repulsión electrostática. En todos los eucariotas esto se consigue gracias a que el DNA forma un complejo —la cromatina— en el que las histonas constituyen el principal acompañante. Las histonas son proteínas básicas, cuya carga positiva puede neutralizar en parte la del DNA. Pero ahora se plantea otro problema: no hay que empaquetar en el núcleo solo el DNA sino además una cantidad prácticamente igual de histonas.

La estructura de la cromatina atrajo la atención de los investigadores desde mediados del siglo XX, pero no se comenzó realmente a avanzar en ese problema hasta 1974, cuando se descubrió el nucleosoma, la partícula elemental constituyente de la cromatina. Un nucleosoma está formado por un octámero de histonas —dos copias de H2A, H2B, H3 y H4—, una longitud variable de DNA y, en muchos casos, una molécula de una quinta clase de histonas, la H1. Aunque haya elementos variables en el nucleosoma, una parte de él, la partícula núcleo (*core particle*), está extraordinariamente bien conservada en todos los eucariotas. Está formada por el octámero de histonas rodeado por 147 pares de bases de DNA, que describen una vuelta y tres cuartos de superhélice. La dilucidación de la estructura de la partícula núcleo a nivel atómico supuso un reto para los investigadores. El grupo de Van Moudrianakis lo consiguió en 1991 solo con el octámero de histonas sin DNA y hasta 1997 no se logró con la partícula núcleo completa, gracias al trabajo del grupo de Tim Richmond.

La compactación de la cromatina no se agota con las partículas núcleo. Estas se disponen formando estructuras de orden superior, en las que las partículas adyacentes se colocan cara con cara, de modo que las histonas son ordinariamente poco accesibles: solo algunas partes de su estructura, especialmente los extremos

N-terminales, son capaces de proyectarse hacia el exterior, saliendo a través de los surcos del DNA.

A medida que se avanzaba en el estudio de la estructura de la cromatina, se extendía la idea de que los nucleosomas, y más aún las estructuras de orden superior, suponían un obstáculo a la función del DNA. Por ejemplo, para que un gen se transcriba, la RNA polimerasa, cuyas dimensiones superan las del nucleosoma, debe separar las dos hebras del DNA y recorrer una de ellas, tarea que se nos antoja tan complicada como desenrollar los cabos de un hilo que, a su vez, estuviera retorcido en el interior de un ovillo. Pero poco a poco se fue imponiendo la idea de que las histonas no tienen un papel meramente pasivo en la compactación del DNA, sino que desempeñan una función reguladora. Ciertamente, la presencia de nucleosomas supone una dificultad para la transcripción, pero los nucleosomas no se colocan al azar. En muchos genes, las regiones reguladoras están desprovistas de nucleosomas, dejando las secuencias diana accesibles a los factores transcripcionales. En otros, sucede lo contrario. Es evidente que, en estos últimos, la presencia de las histonas impide el ensamblaje de la RNA polimerasa, mientras que en los primeros lo permite.

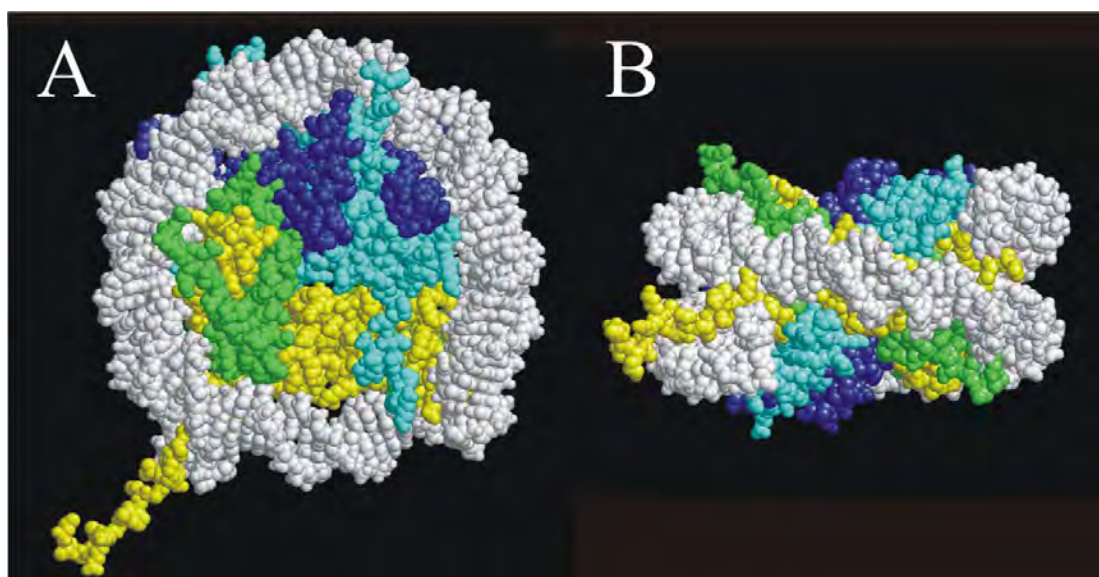
Pero la estructura de la cromatina es enormemente dinámica. Los octámeros de histonas pueden cambiar de lugar, deslizándose sobre el DNA o saltando de un lugar a otro, o pueden cambiar de estructura, abriéndose para permitir el acceso a secuencias de DNA que, de otro modo, permanecerían ocultas. En la mayor parte de las ocasiones, esta remodelación de la cromatina implica el gasto de ATP, porque abrir o destruir una estructura tan estable como el nucleosoma es un proceso endergónico. En cualquier caso, es necesaria la participación de complejos proteicos que se encargan de esa función de remodelación. Pero, ¿cómo saben esos complejos en qué lugar deben actuar? El tema sigue siendo objeto de activa investigación, pero está claro que en el reclutamiento de esos complejos influyen decisivamente los factores epigenéticos. Se trata fundamentalmente de modificaciones covalentes de las histonas o del DNA, que

marcan distintivamente las diferentes regiones de la cromatina, y determinan si se trata de regiones inactivas, activas o potencialmente activas. De este modo, hoy en día no es posible estudiar la regulación génica en eucariotas si se prescinde del papel estructural y regulador de la cromatina.

Referencias

1. Arents, G., Burlingame, R. W., Wang, B.-C., Love, W. E. y Moudrianakis, E. N. (1991) The nucleosomal core histone octamer at 3.1 Å resolution: A tripartite protein assembly and a left-handed superhelix. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 88, 10148-10152.
2. Bannister, A. J. y Kouzarides, T. (2011) Regulation of chromatin by histone modifications. Cell Res. 21, 381-395.
3. Luger, K., Mäder, A. W., Richmond, R.K., Sargent, D. F. y Richmond, T. J. (1997) Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. Nature 389, 251-260.
4. Sacilotto, N., Espert, A., Castillo, J., Franco, L. y López-Rodas, G. (2011) Epigenetic transcriptional regulation of the growth arrest-specific gene 1 (Gas1) in hepatic cell proliferation at mononucleosomal resolution. PLoS One 6(8):e23318.
5. Tur, G., Georgieva, E. I., Gagete, A., López-Rodas, G., Rodríguez, J. L. y Franco, L. (2010) Factor binding and chromatin modification in the promoter of murine Egr1 gene upon induction. Cell Mol. Life Sci. 67, 4065-4077.
6. Winkler, D. D. y Luger, K. (2011) The histone chaperone FACT: structural insights and mechanisms for nucleosome reorganization. J. Biol. Chem. 286, 18369-18374.

Figura. Partícula núcleo desde el eje de la superhélice (A) y desde el eje pseudobinario (B).



SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS

Hacia la utilización de cannabinoides en terapias antitumorales

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2013.05.1

Guillermo Velasco

Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular I, Universidad Complutense de Madrid



Biografía

Guillermo Velasco (Madrid, 1970) es licenciado en Ciencias Biológicas por la Universidad Complutense de Madrid (1993) y doctor en Biología por la misma Universidad (1997). Obtuvo una beca postdoctoral EMBO para desarrollar una estancia postdoctoral en el laboratorio del Dr. Philip Cohen en la Universidad de Dundee. En la actualidad es profesor Titular de Universidad en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I de la Universidad Complutense de Madrid. Guillermo Velasco es autor de más de 50 artículos y revisiones científicas. Entre sus contribuciones científicas destaca el descubrimiento de algunos de los mecanismos mediante los cuales los cannabinoides ejercen su acción antitumoral así como la identificación de una ruta de activación de la autofagia que conduce a la muerte de las células tumorales. Igualmente ha participado en la identificación de los mecanismos de resistencia a la acción antitumoral de los cannabinoides.

Resumen

Los cannabinoides (los componentes activos de la marihuana y sus derivados) pueden reducir el crecimiento de tumores en modelos animales de cáncer. En este breve artículo discutiré cuáles son los mecanismos por los que estos compuestos producen estos efectos, así como los pasos que se están dando para poder ensayar su posible utilidad en terapias antitumorales en humanos.

Summary

Cannabinoids (the active components of marijuana and their derivatives) can reduce tumour growth in animal models of cancer. In this article I will discuss the molecular mechanisms by which these agents produce these effects as well as the steps that are being undertaken in order to test their potential applicability in anticancer therapies.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

Los cannabinoides en terapias antitumorales:

El Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC) – el principal principio activo de la marihuana - media gran parte de sus efectos a través de su unión a los receptores CB1 y CB2. Dichos receptores forman parte de un sistema de comunicación celular que está implicado en la regulación de numerosas funciones fisiológicas y que se denomina sistema cannabinoide endógeno.

Hoy en día se encuentra bien establecida la capacidad del THC y de otros ligandos de los receptores de cannabinoides para atenuar los efectos secundarios asociados a determinados tratamientos antitumorales. Junto a esos efectos paliativos de los cannabinoides, experimentos llevados a cabo durante los últimos años por diversos laboratorios – incluyendo el nuestro – han puesto de manifiesto que la unión de THC (o de otros compuestos cannabinoides) a los receptores de cannabinoides es capaz de reducir el crecimiento de tumores derivados de diversos tipos de células tumorales incluyendo: glioma (el tipo más frecuente de tumor cerebral), cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de páncreas y carcinoma hepático, abriendo la puerta a la posible utilización de estos compuestos como fármacos antitumorales.

El efecto antitumoral de los cannabinoides se basa fundamentalmente en la capacidad de estos compuestos para inducir la muerte de las células tumorales, pero ¿cuál es la cascada de eventos que lleva a la activación de ese proceso por los cannabinoides? Uno de los cambios que ocurre de manera temprana tras la activación de los receptores de cannabinoides en las células tumorales es la estimulación de la biosíntesis de esfingolípidos (una familia de lípidos que desempeña un importante papel estructural y señalizador en la célula) y su acumulación en el orgánulo donde tiene lugar dicho proceso: el retículo endoplásmico (RE). En el RE se dan funciones de gran importancia para la célula entre las que se encuentran la propia síntesis lipídica, la síntesis y plegamiento de proteínas o el almacenamiento de calcio. Cuando este orgánulo sufre algún tipo de alteración se activan una serie de mecanismos, denominados de manera genérica respuesta al estrés de RE, que tienen como objetivo restablecer el normal funcionamiento del RE. Sin embargo, en ocasiones, la intensidad o duración del

estímulo que origina la alteración hace que la ruta de respuesta a estrés de RE conduzca a la activación de la muerte celular programada. En nuestro laboratorio, hemos encontrado que la acumulación que promueven los cannabinoides de ciertas especies de esfingolípidos conduce a la activación de una ruta de señalización relacionada con la respuesta a estrés de RE que lleva a la muerte de las células tumorales. En dicha ruta desempeñan un papel destacado dos proteínas denominadas p8 (un factor de transcripción que controla la expresión de otras proteínas) y una de sus dianas, TRB3. El tratamiento con cannabinoides origina un aumento en los niveles de estas dos proteínas, lo que conduce a la inhibición de otro importante complejo señalizador denominado mTORC1 ("mammalian target of rapamycin complex 1") y a la activación de un proceso celular que dicho complejo controla, la autofagia.

En circunstancias normales la autofagia actúa proporcionando nutrientes a las células y es por tanto un proceso que participa en el normal funcionamiento de las mismas. Sin embargo – al igual que ocurría en el caso del estrés de RE - la autofagia puede tener también un papel inductor de muerte celular. Así, el tratamiento con cannabinoides activa la autofagia de manera que este proceso conduce a la activación de la apoptosis y a la muerte de las células tumorales. Es importante destacar que estos efectos de los cannabinoides son selectivos de las células tumorales ya que el tratamiento con estos compuestos no promueve ni la acumulación de ceramida,

ni la activación de la ruta relacionada con el estrés de RE, ni la autofagia ni la apoptosis en células no transformadas. Hacia la utilización de los cannabinoides como fármacos antitumorales:

Datos recientes obtenidos en Glioblastoma multiforme sugieren que determinados tipos de tumores y en particular aquellos que expresan altos niveles de un factor de crecimiento denominado midquina (MDK), presentan una mayor resistencia a la acción antitumoral de los cannabinoides. La MDK promueve la resistencia de las células de tumores cerebrales a la acción de los cannabinoides mediante su interacción con una proteína denominada ALK (proteína quinasa asociada al linfoma anaplásico). Por otra parte otro estudio reciente indica que la administración conjunta de THC y el fármaco antitumoral temozolomida (un agente alquilante del DNA que se utiliza habitualmente en el tratamiento del Glioblastoma multiforme) reduce muy fuertemente el crecimiento de tumores derivados de células de glioma en modelos animales, incluso en aquellos tumores que son resistentes al tratamiento con uno solo de los dos compuestos. Estos resultados indican que la combinación del THC con otros fármacos antineoplásicos podría actuar de manera sinérgica reduciendo el crecimiento tumoral.

La potente actividad antitumoral de los cannabinoides unida a su capacidad para potenciar la acción de otros agentes antineoplásicos y a su reducida toxicidad hace de estos compuestos excelentes candidatos para su utilización en el tratamiento del cáncer.

Referencias

- 1) Velasco G*, Sánchez, C & Guzmán, M. *(Corresponding author). Towards the use of cannabinoids as anti-tumour agents. *Nat Rev Cancer* 12, 436-44 (2012)
- 2) Carracedo, A., Lorente, M., Egia, A., Blázquez, C., García, S., Giroux, V., Malicet, C., Villuendas, R., Gironella, M., González-Feria, L., Piris, M.A., Iovanna, J.L., Guzmán, M., Velasco, G. The stress-regulated protein p8 mediates cannabinoid-induced apoptosis of tumor cells. *Cancer Cell* 9, 301-312 (2006)
- 3) Salazar, M., Carracedo, A., Salanueva, I.J. Hernández, S., Lorente, M., Egia, A., Vázquez, P., Blázquez, C., Torres, S., García, S., Nowak, J., Fimia, G.M., Piacentini, M., Cecconi, F., Pandolfi, P.P., González-Feria, L., Iovanna, J.L., Guzmán, M., Boya, P. & Velasco, G. Cannabinoid action induces autophagy-mediated cell death through stimulation of ER stress in human glioma cells. *J. Clin. Invest.* 119:1359-1372 (2009)
- 4) Torres, S., Lorente, M., Rodríguez-Fornés, F., Hernández-Tiedra, S., Salazar, M., García-Taboada, E., Barcia, J., Guzmán, M. & Velasco, G. A Combined Preclinical Therapy of Cannabinoids and Temozolomide against Glioma. *Mol Cancer Ther* 10:90-103 (2011)
- 5) Lorente, M., Torres, S., Salazar, M., Carracedo, A., Hernández-Tiedra, S., Rodríguez-Fornés, F., García-Taboada, E., Meléndez, B., Mollejo, M., Campos-Martín, Y., Lakatos, SA, Barcia, J., Guzmán, M. & Velasco, G. Stimulation of the midkine/ALK axis renders glioma cells resistant to cannabinoid antitumoral action. *Cell Death Differ* 18:959-73 (2011)
- 6) http://www.bbm1.ucm.es/cannabis/guillermovelascocoinicio_es.htm
- 7) <http://www.ucm.es/info/seic-web/>

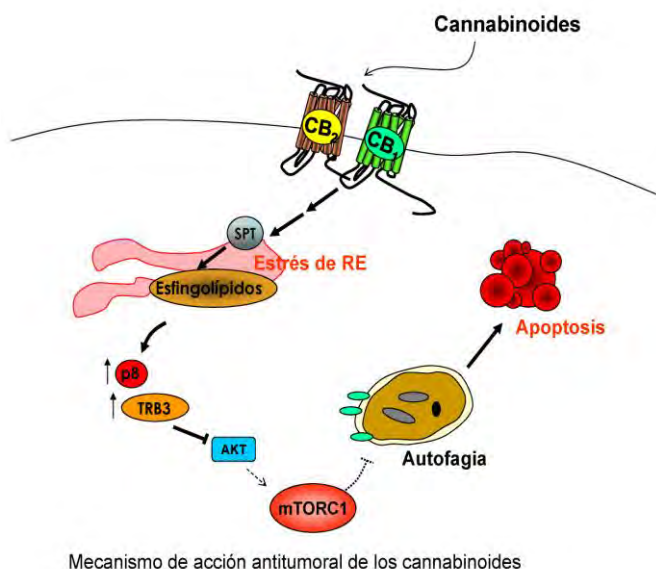


Figura. Mecanismo de acción antitumoral de los cannabinoides.

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS

El sincrotrón Alba

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2013.06.1

Jordi Juanhuix

Experiments Division, CELLS-ALBA Synchrotron, Barcelona



Biografía Resumen

Después del grado en Física por la Universitat Autònoma de Barcelona, obtuvo una beca en el CEA (Grenoble, France) para estudiar aleaciones granulares metálicas por EXAFS. Continuó en el Laboratori de Llum de Sincrotró (Barcelona) donde obtuvo el PhD estudiando por difracción a bajos ángulos (SAXS) la estructura y función de músculos vivos. En paralelo trabajó en el diseño de los dispositivos de inserción y de diversas líneas de luz. Desde 2001 trabajó como científico de línea en la línea BM16 del ESRF (Grenoble), donde diseñó e implementó la nueva óptica y las estaciones experimentales de cristalografía de proteínas (MX) y SAXS, y se involucró en estudios del sistema inmunitario del complemento por MX. Desde 2004 es responsable de la línea XALOC en ALBA, que ha diseñado, construido y puesto a punto. Junto con el trabajo en la línea, está colaborando en varios proyectos, incluyendo transportadores de membrana bacterianos, complejos inhibidor-factor de crecimiento y compuestos organometálicos.

Las aplicaciones en biología ocupan una parte importante de la ciencia en Alba, con tres estaciones experimentales (líneas de luz) dedicadas. En este artículo describimos sus usos, y detallamos en particular las propiedades y posibilidades de la línea de luz XALOC, dedicada a la cristalografía de macromoléculas.

Summary

The applications in biology are one of the main scientific applications of the Alba synchrotron, with three dedicated experimental stations (beamlines). Here we describe these beamlines, and focus on the properties and applications of the XALOC beamline, dedicated to macromolecular crystallography.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

La luz de sincrotrón, principalmente en el rango de los rayos X, es la base de muchas técnicas experimentales, que aprovechan las diversas interacciones de la luz sincrotrón con los electrones de los átomos que forman muestras tan diversas como materiales magnéticos, catalizadores, polímeros, superconductores, o biomoléculas. Así, técnicas como la microscopía, la espectroscopía y la difracción de rayos X son ya una herramienta de uso común en muchos campos científicos, y también cada vez más en la biología molecular y la bioquímica. Las estaciones experimentales, también llamadas líneas de luz, del sincrotrón Alba en Barcelona (1), que entró en operación a mediados del 2012, son una prueba de ello: tres de las siete líneas de luz construidas tienen aplicación directa en las ciencias de la vida.

La primera de ellas, BL9-MISTRAL, está dedicada a la microscopía de transmisión de rayos X con una resolución espacial en 2D de 30 nm. La línea está pensada para la criotomografía (reconstrucción en 3D) de células en el rango de la llamada *water window*, una región del espectro de los rayos X blandos en la cual la luz sincrotrón interactúa más con las macromoléculas (con gran cantidad de carbono) que con el agua (constituida básicamente por oxígeno). Esta técnica es de reciente aparición y con toda probabilidad su uso se extenderá.

Otra línea es la línea de luz BL11-NCD, dedicada a la difracción y dispersión de rayos X a bajos ángulos (SAXS). El uso de esta técnica es cada vez más importante en estudios estructurales de proteínas y grandes complejos macromoleculares en solución. La técnica de SAXS permite determinar la forma de proteínas y complejos a baja resolución, sin necesidad de cristalizarlos.

Finalmente, BL13-XALOC es la línea de luz de Alba dedicada a la cristalografía de macromoléculas (MX), seguramente la técnica en biología más extendida en todos los sincrotrones del mundo. En la técnica MX, el haz de rayos X incide y es dispersado por un cristal cuya celda unidad contiene la proteína o complejo a estudiar. Las ondas de cada celda interfieren constructivamente sólo en determinadas direcciones, en las que aparece un pico de difracción, o reflexión (Figura a). La posición de la reflexión depende del tamaño y forma de la celda unidad, mientras que su intensidad depende de la proteína o complejo contenidos en ella. Así, localizando estas posiciones e intensidades para todas las orientaciones del cristal, y resolviendo el llamado *problema de las fases* mediante diversas técnicas, con datos básicos como la secuencia

es posible encontrar la estructura de la proteína o complejo con una resolución de pocos Angstroms, es decir, casi atómica.

Evidentemente, una condición previa, y también un cuello de botella, para realizar experimentos de MX es la cristalización de la estructura estudiada. Aún así, el ritmo de determinación de estructuras ha estado creciendo ininterrumpidamente desde la eclosión de la técnica, tal como se refleja en la base de datos mundial de estructuras (2). Cada vez más, dada la dificultad creciente de los proyectos, la técnica de MX precisa de mejores líneas de luz sincrotrón dedicadas, y se complementa con otras como espectroscopía de rayos X o, especialmente, SAXS, como se ha mencionado anteriormente.

La línea XALOC entró en operación el 18 de julio de 2012, y desde entonces ha dado servicio a decenas de usuarios. XALOC produce un haz monocromático entre 2.4 y 0.58 Å y de 50×10 μm (horizontal×vertical) de tamaño (Figura b). El haz se ha demostrado muy estable durante horas y con un cambio fácil y rápido de la longitud de onda. Además la línea está equipada con un buen equipo experimental (Figura c). Las muestras se sitúan en un goniómetro de alta precisión de un eje, en el que se puede acoplar un montaje adicional con dos ejes más (montaje *mini-kappa*) para orientar adecuadamente los cristales con parámetros de celda grandes. La línea cuenta también con un robot intercambiador de muestras, que es una pieza clave en la automatización de la línea que está en proceso. Finalmente, y de manera especial, cuenta con el detector de referencia actualmente en el campo de la MX, que permite una colección de datos con menos ruido de fondo en las imágenes de difracción, así como un rango dinámico elevado que permite medir a la vez reflexiones intensas y débiles en la misma imagen sin peligro de saturación. Típicamente una colección de datos completa se realiza en 1-3 minutos.

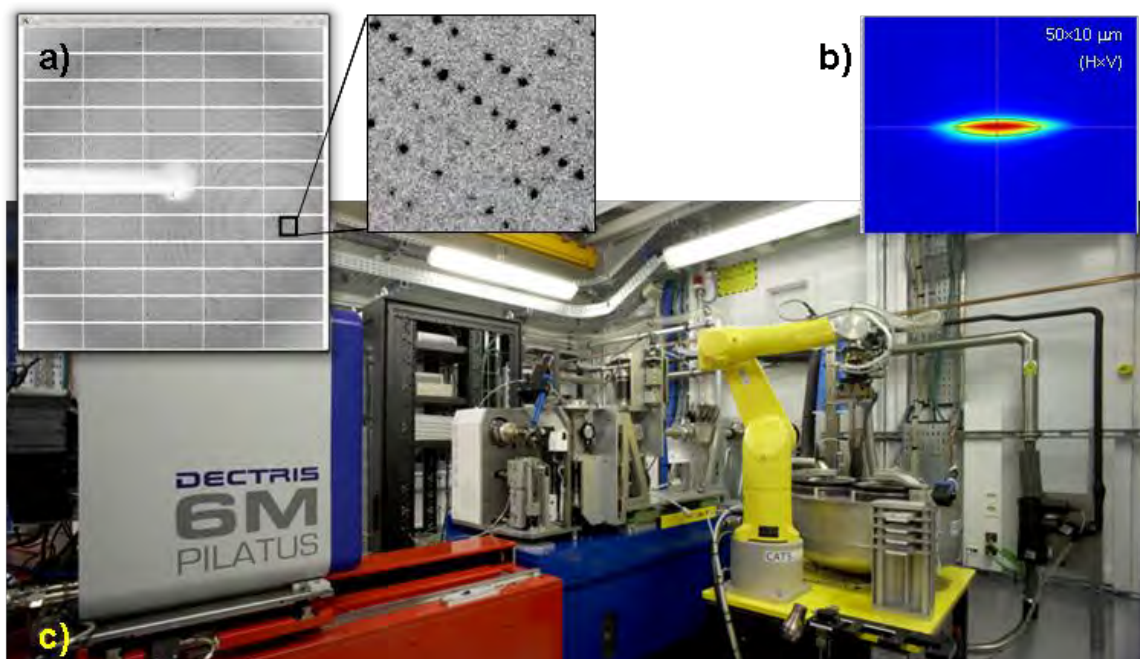
El acceso a la línea XALOC se basa en la evaluación científica de las propuestas de experimentos recibidas en

los periodos de aplicación de propuestas. En los dos periodos habidos hasta la fecha (diciembre 2012) se han registrado un centenar de propuestas sólo para esta línea. El próximo periodo de aplicación se abrirá alrededor del verano de 2013. Se puede obtener más información en la página de la línea (3).

Referencias

- (1) www.cells.es/Beamlines
- (2) www.rscb.org
- (3) www.cells.es/Beamlines/XALOC/

Figura. a) Ejemplo de diagrama de difracción, tomado en XALOC, de un cristal de rhinovirus 2 humano, con parámetros de celda unidad superiores a 450 Å (cortesía Núria Verdaguer, IBMB-CSIC). b) Haz de rayos X producido en XALOC en la posición de la muestra. c) Interior de la cabina experimental de XALOC. Destacan el detector sobre la mesa roja, el goniómetro sobre la mesa azul, y el robot cambiador de muestras en amarillo.



SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



La reprogramación celular

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2013.06.2

Manuel Serrano

Programa de Oncología Molecular, Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO)

Biografía *Resumen*

Manuel Serrano se doctoró en la Universidad Autónoma de Madrid (1991). Entre 1992-1996 trabajó en el Cold Spring Harbor Laboratory (Nueva York, USA), donde caracterizó el gen p16. Volvió a España en 1997 para dirigir un grupo de investigación en el Centro Nacional de Biotecnología, y a partir de 2003 en el Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), donde actualmente es Director del Programa de Oncología Molecular. Es reconocido internacionalmente como uno de los líderes en el campo de la supresión tumoral. Su grupo fue pionero en la generación de ratones modificados genéticamente para que sean resistentes al cáncer, y también en la conexión entre los genes protectores del cáncer y la protección contra el envejecimiento. Más recientemente, su laboratorio ha hecho importantes descubrimientos sobre el papel que tienen los genes protectores del cáncer en la reprogramación celular. Sus trabajos han acumulado 17.000 citas en las revistas Nature, Science y Cell.

Se está empezando a entender la plasticidad celular y a manipularla de manera controlada. Este nuevo campo de investigación puede suponer una revolución para la medicina celular regenerativa. Aquí repaso algunos de los temas pendientes, incluida la posible relación entre plasticidad celular y cáncer.

Summary

Scientists are starting to understand the plasticity of cellular identity and to manipulate it in a controlled manner. This emerging field of research may open new strategies in regenerative medicine. Here, I discuss some of the pending issues, including the possible connection between cellular plasticity and cancer.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

Hace tan sólo 6 años, Shinya Yamanaka sorprendió a la comunidad científica al descubrir que era posible convertir cualquier tipo celular diferenciado en células madre embrionarias (Takahashi and Yamanaka, 2006). De un plumazo se eliminaron todas las barreras técnicas y éticas que habían frenado la investigación sobre este tipo de células humanas, y a la vez comenzó un campo de investigación fascinante sobre la plasticidad de las células.

Hoy día es posible convertir células de piel (por ejemplo, fibroblastos de la endodermis que suelen ser las células más usadas por su fácil acceso y cultivo) en tipos celulares tan diversos como neuronas, hepatocitos o cardiomiocitos, y esto puede hacerse directamente, sin pasar por el estado de célula madre embrionaria, es lo que se llama “reprogramación directa” (Ladewig et al., 2013). Sin embargo, la “reprogramación embrionaria” original de Yamanaka sigue siendo el método más prometedor para una futura medicina celular regenerativa debido a que las células madre embrionarias se multiplican con enorme rapidez y facilidad y mantienen intactas sus propiedades y su integridad genética, algo que no pasa con los tipos celulares adultos que no crecen con la misma rapidez y que tienen tendencia a acumular alteraciones genéticas.

En las siguientes líneas repaso algunos de los temas pendientes que concentran gran parte de la investigación en el campo de la “reprogramación embrionaria” y que afectan en igual medida a la “reprogramación directa”.

Reprogramación química. Una limitación muy importante de la reprogramación celular, tanto la embrionaria como la directa, es el hecho de que requiere introducir genes exógenos en las células parentales. Estos genes son en su mayoría factores de transcripción y muchos de ellos tienen propiedades oncogénicas. Además, estos factores sólo se pueden introducir de manera eficiente y poco inmunogénica usando vectores de tipo retroviral que tienen la propiedad de integrarse al azar en el genoma y esto se sabe que conlleva un riesgo de producir lesiones oncogénicas. Por estos motivos hay un enorme interés en conseguir la reprogramación usando exclusivamente suplementos en los medios de cultivo, tanto péptidos activos como factores de crecimiento o citoquinas, como compuestos químicos que imiten la función de los factores de reprogramación genéticos (Li et al., 2012). Se ha avanzado mucho en esta dirección. Por ejemplo, algunos de los factores originales de Yamanaka se han podido sustituir por compuestos químicos, se han descubierto otros compuestos químicos que potencian la



reprogramación, pero aún no se ha conseguido la “reprogramación embrionaria” completa sin usar factores genéticos.

Reprogramación por pasos. Hasta ahora sólo es posible la “reprogramación embrionaria” cuando se introducen simultáneamente todos los factores genéticos (generalmente cuatro). Sin embargo hay muchas sospechas de que la reprogramación no ocurre en un solo paso (Polo et al., 2012). De hecho, la reprogramación suele implicar un plazo de tiempo extrañamente dilatado, normalmente 2 semanas. Qué pasa durante todo este tiempo es algo que se está empezando a diseccionar pero que todavía es muy oscuro. Uno de los grandes objetivos es conseguir una reprogramación por etapas, con sucesivas paradas en estados intermedios estables, pero esto aún no se ha conseguido. El deconstruir la reprogramación en etapas permitiría analizar separadamente cada etapa y optimizarla.

Reprogramación eficiente. La baja eficiencia del proceso de reprogramación es una dificultad añadida para la caracterización bioquímica del proceso de reprogramación. Las eficiencias más altas de reprogramación conseguidas están en el orden del 10% (es decir, una de cada diez células tratadas alcanzan el estado de célula madre embrionaria, mientras que el resto son procesos abortivos que terminan en apoptosis o senescencia celular). Nosotros hemos contribuido a este problema identificando a los genes supresores de tumores p16Ink4a, p19Arf y p53 como barreras importantes para la reprogramación (Li et al., 2009; Marion et al., 2009). Estos genes se pueden silenciar transitoria y reversiblemente y de este modo conseguir eficiencias del 10% sin por ello perder la funcionalidad posterior de estos genes supresores.

Reprogramación intermedia. Las células madre embrionarias, a pesar de sus ventajas, como crecer rápida y establemente, presentan algunas limitaciones. Una de ellas es la dificultad, todavía no resuelta, de diferenciarlas in vitro de manera controlada y homogénea (es decir, conseguir diferenciaciones de todas las células parentales y únicamente en el tipo celular deseado). Una solución a este problema podría ser el renunciar a la reprogramación embrionaria y conformarse con reprogramaciones parciales o intermedias que hipotéticamente podrían ser ventajosas. Estos estadios intermedios no están bien caracterizados ni son estables, pero sí que hay evidencias experimentales de que una exposición transitoria de las células parentales a los factores de reprogramación las convierte por un tiempo en un estado “plástico” desde el cual es posible dirigir su diferenciación de manera más eficiente (Kurian et al., 2013). Como quizás se pueda intuir por lo anterior, una gran pregunta aún sin resolver es si la reprogramación embrionaria recapitula “marcha atrás” los procesos de diferenciación, o si por el contrario es un camino totalmente independiente que lleva al punto de partida embrionario por un “atajo”.

Reprogramación y cáncer. Finalmente, aún hay muchas preguntas pendientes sobre qué papel juega la reprogramación celular en el cáncer (Suva et al., 2013). Hay dos visiones no necesariamente en conflicto sobre

este punto. Según una de ellas, el cáncer implica un proceso aberrante e incompleto de reprogramación (reprogramación oncogénica). Según otra visión, inducir la reprogramación en células cancerosas puede permitir a la célula tumoral reconducirse por un proceso de diferenciación que cancelaría el fenotipo tumorigénico (reprogramación anti-oncogénica). Todavía se sabe demasiado poco como para aventurar si alguna de estas posibilidades será relevante.

Referencias

1. Kurian, L., Sancho-Martinez, I., Nivet, E., Aguirre, A., Moon, K., Pendaries, C., Volle-Challier, C., Bono, F., Herbert, J.M., Pulecio, J., et al. (2013). Conversion of human fibroblasts to angioblast-like progenitor cells. *Nat Methods* 10, 77-83.
2. Ladewig, J., Koch, P., and Brustle, O. (2013). Leveling Waddington: the emergence of direct programming and the loss of cell fate hierarchies. *Nat Rev Mol Cell Biol* 14, 225-236.
3. Li, H., Collado, M., Villasante, A., Strati, K., Ortega, S., Canamero, M., Blasco, M.A., and Serrano, M. (2009). The Ink4/Arf locus is a barrier for iPS cell reprogramming. *Nature* 460, 1136-1139.
4. Li, W., Jiang, K., and Ding, S. (2012). Concise review: A chemical approach to control cell fate and function. *Stem Cells* 30, 61-68.
5. Marion, R.M., Strati, K., Li, H., Murga, M., Blanco, R., Ortega, S., Fernandez-Capetillo, O., Serrano, M., and Blasco, M.A. (2009). A p53-mediated DNA damage response limits reprogramming to ensure iPS cell genomic integrity. *Nature* 460, 1149-1153.
6. Polo, J.M., Anderssen, E., Walsh, R.M., Schwarz, B.A., Nefzger, C.M., Lim, S.M., Borkent, M., Apostolou, E., Alaei, S., Cloutier, J., et al. (2012). A molecular roadmap of reprogramming somatic cells into iPS cells. *Cell* 151, 1617-1632.
7. Suva, M.L., Riggi, N., and Bernstein, B.E. (2013). Epigenetic reprogramming in cancer. *Science* 339, 1567-1570.
8. Takahashi, K., and Yamanaka, S. (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126, 663-676.

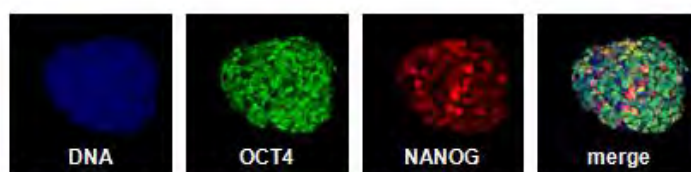


Figura. La imagen corresponde a una colonia de células embrionarias obtenidas por reprogramación de células de la piel. Las células fueron teñidas con varios compuestos fluorescentes. El núcleo de las células (DNA, azul), los niveles de la proteína de pluripotencia OCT4 (verde, homogéneos en todas las células), y los niveles de la proteína de pluripotencia NANOG (rojo, heterogéneos). La heterogeneidad de NANOG refleja estados transitorios de la célula madre: altos niveles de NANOG favorecen la autorrenovación; bajos niveles de NANOG favorecen la diferenciación. La imagen de la derecha muestra la mezcla (merge) de las tres imágenes precedentes. El experimento fue realizado por Lucía Morgado-Palacín (CNIO).

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS

Diseñadas para comunicar

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2013.07.1

Arantxa Taberbero

Facultad de Biología de la Universidad de Salamanca e Instituto de Neurociencias de Castilla y León (INCYL)



Biografía

Arantxa Taberbero (Salamanca, 1966) es licenciada (1989) y Doctora en Farmacia (1993) por la Universidad de Salamanca. Es profesora titular de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Biología de la Universidad de Salamanca y desarrolla su investigación en el Instituto de Neurociencias de Castilla y León (INCYL). Ha participado en la descripción del ácido oleico como factor neurotrófico sintetizado por los astrocitos para promover la diferenciación neuronal durante el desarrollo y en el papel de las uniones comunicantes de los astrocitos en la canalización de sustratos metabólicos. En la actualidad su investigación se centra en el estudio de la comunicación intercelular en importantes patologías del sistema nervioso central incluyendo los gliomas, los tumores cerebrales más frecuentes. Arantxa Taberbero ha sido Secretaria de la Facultad de Biología, Coordinadora de los Laboratorios Docentes de la Universidad de Salamanca, Vocal de la Junta directiva de la SEBBM y en la actualidad es Subdirectora del Instituto de Neurociencias de Castilla y León (INCYL).

Resumen

Uno de los sistemas de comunicación entre células son las uniones comunicantes formadas por proteínas denominadas conexinas. Se trata de proteínas que constituyen canales de comunicación entre dos células, interrumpiendo la membrana plasmática y permitiendo el intercambio de material entre ellas. Además, el extremo C-terminal de la conexina establece una interesante comunicación con proteínas intracelulares. No es de extrañar, por tanto, que las conexinas sean tan relevantes para regular el correcto funcionamiento de muchos procesos biológicos.

Summary

Gap junctions are one of the intercellular communication systems. They are intercellular channels formed by proteins called connexins that allow the passage of ions and small molecules between adjacent cells. In addition, the C-terminal domain of connexin interacts with several intracellular proteins. Therefore, it is not surprising that connexins play essential roles in several biological processes.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

La comunicación es uno de los principales motores de la evolución biológica en cualquiera de los niveles de organización que analicemos, desde las células individuales hasta los grupos de individuos. Un ejemplo muy ilustrativo es el que mostraba Pablo Herreros sobre la transmisión cultural entre los miembros de una comunidad de macacos (1). Es obvio que cada descubrimiento de un nuevo sistema de comunicación, bien sea la imprenta, el ferrocarril o internet ha revolucionado nuestra existencia, entre otras cosas por su contribución a la transmisión del conocimiento y, con ello, a mejorar nuestra calidad de vida, erradicar algunas enfermedades o incrementar la esperanza de vida. Del mismo modo, las células disponen de un gran número de sistemas para comunicarse a corta, media y larga distancia. Uno de los sistemas de comunicación a corta distancia son las uniones comunicantes, también llamadas en hendidura, nexo o uniones *gap* (en inglés: *gap junctions*), que están presentes entre las células de prácticamente todos los tejidos animales. Las proteínas que forman estas uniones son las conexinas, un ejemplo fascinante de diseño molecular especializado en comunicación.

La familia de las conexinas está integrada por una veintena de proteínas codificadas por diferentes genes pero con una topología muy similar. Las conexinas se agrupan formando un anillo hexamérico denominado hemicanal o conexón (figura 1A). Cada conexina posee cuatro regiones transmembrana, dos bucles extracelulares, uno intracelular y los extremos amino y carboxilo orientados hacia el lado citoplasmático (figura 1B). Estas hélices transmembrana son mayoritariamente hidrofóbicas para anclarse en la bicapa lipídica a excepción de unos cuantos residuos hidrofílicos que se alinean y orientan hacia la luz del poro permitiendo la formación del canal de comunicación (2). Los bucles extracelulares interaccionan con los bucles extracelulares de otras conexinas mediante interacciones que se establecen entre residuos altamente conservados de estas regiones provocando la unión de dos conexiones. Este conjunto de interacciones moleculares permite formar un canal que comunica los citoplasmas de dos células adyacentes. El diámetro del poro que se forma es de aproximadamente 14 Å y permite el intercambio de iones y moléculas de hasta 1 kDa como segundos mensajeros o metabolitos. Este inter-

SEBBM
SEBBM

Sociedad Española
de Bioquímica y
Biología Molecular

cambio de material permite que un conjunto de células coordine importantes funciones biológicas como son el desarrollo, la sincronización celular, la actividad neuronal, la respuesta inmune, el metabolismo, la proliferación o la diferenciación.

En ocasiones este tipo de comunicación no solamente es importante para las células que están comunicadas entre sí, también puede afectar a otros tipos celulares. Tomemos como ejemplo el sistema nervioso central; en él los capilares cerebrales están totalmente rodeados por los pies terminales de los astrocitos, de manera que la glucosa y otros sustratos cerebrales deben pasar por los astrocitos para llegar a las neuronas (figura 1C). Los astrocitos se encuentran ampliamente comunicados entre sí a través de uniones comunicantes formadas mayoritariamente por conexina-43. Entre otras muchas funciones, estas uniones comunicantes de los astrocitos permiten canalizar los sustratos metabólicos desde la sangre hasta las neuronas para mantener la actividad sináptica (3).

La capacidad de comunicación de estas proteínas no termina aquí; siguiendo con el ejemplo de la conexina-43, el extremo carboxilo terminal de esta proteína interacciona con un gran número de proteínas intracelulares de señalización y andamiaje, como proteínas del citoesqueleto, cederinas, ZO-1, c-Src, PKC o cavelinas (4). Muchas de estas interacciones tienen como objetivo modificar la conformación de la conexina y con ello regular la apertura y cierre del canal. De esta manera, la célula puede actuar de forma aislada o cooperativa gracias a la acción de determinadas proteínas sobre el extremo carboxilo terminal de la conexina. Pero además, el extremo carboxilo terminal de la conexina-43 puede modificar la actividad de algunas de las proteínas con las que interacciona, este es el caso de c-Src, una tirosina quinasa de extrema importancia para la célula por ser un nudo de comunicación de múltiples vías de señalización (figura 1D; 7). De esta forma, la conexina estaría actuando como un receptor que desencadena una respuesta intracelular.

Hace más de 40 años Loewenstein constató que este tipo de comunicación intercelular se pierde en la mayoría de las células tumorales (5). En concreto, en la mayor parte de los gliomas, los tumores cerebrales más frecuentes, apenas hay expresión de conexina-43. Pues bien, cuando

se restaura la expresión de esta proteína, la velocidad de crecimiento de las células de glioma disminuye (6). Este efecto antiproliferativo se debe a la capacidad de la conexina-43, a través de su extremo carboxilo terminal, de reducir la actividad oncogénica de c-Src (7).

Por tanto, estamos ante unas proteínas diseñadas para constituir un poro de comunicación que interrumpe la barrera intercelular que constituye la membrana plasmática, pero que además poseen una cola citoplasmática para comunicarse con proteínas intracelulares. No es de extrañar por tanto que estas proteínas sean tan relevantes para regular el correcto funcionamiento de muchos procesos biológicos. En los periódicos podemos leer cada día los problemas derivados de la alteración en la comunicación entre individuos. Es curioso, en el sistema nervioso central, enfermedades tan importantes como la epilepsia, los gliomas, el Ictus, el Alzheimer o el Parkinson están acompañadas por alteraciones en los niveles de expresión de la conexina-43 en astrocitos (3).

Referencias

- 1) http://www.huffingtonpost.es/pablo-herreros/idi-en-animales_b_1950495.html?ncid=edlinkusaolp00000003
- 2) Maeda S, Nakagawa S, Suga M, Yamashita E, Oshima A, Fujiyoshi Y, Tsukihara T. Structure of the connexin 26 gap junction channel at 3.5 Å resolution. *Nature*. 2009 458:597-602.
- 3) Giaume C, Koulakoff A, Roux L, Holcman D, Rouach N. Astroglial networks: a step further in neuroglial and gliovascular interactions. *Nature Reviews Neuroscience*. 2010 11:87-99.
- 4) Hervé JC, Bourmeyster N, Sarrouilhe D, Duffy HS. Gap junctional complexes: from partners to functions. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 2007 94:29-65.
- 5) Loewenstein, W.R., Kanno, Y. Intercellular communication and the control of tissue growth: lack of communication between cancer cells. *Nature* 1966 209:1248-1249.
- 6) Zhu D, Caveney S, Kidder GM, Naus CC. Transfection of C6 glioma cells with connexin 43 cDNA: analysis of expression, intercellular coupling, and cell proliferation. *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A*. 88:1883-1887.
- 7) Herrero-González S, Gangoso E, Giaume C, Naus CC, Medina JM, Tabernero A. Connexin43 inhibits the oncogenic activity of c-Src in C6 glioma cells. *Oncogene*. 2010 29:5712-5723.

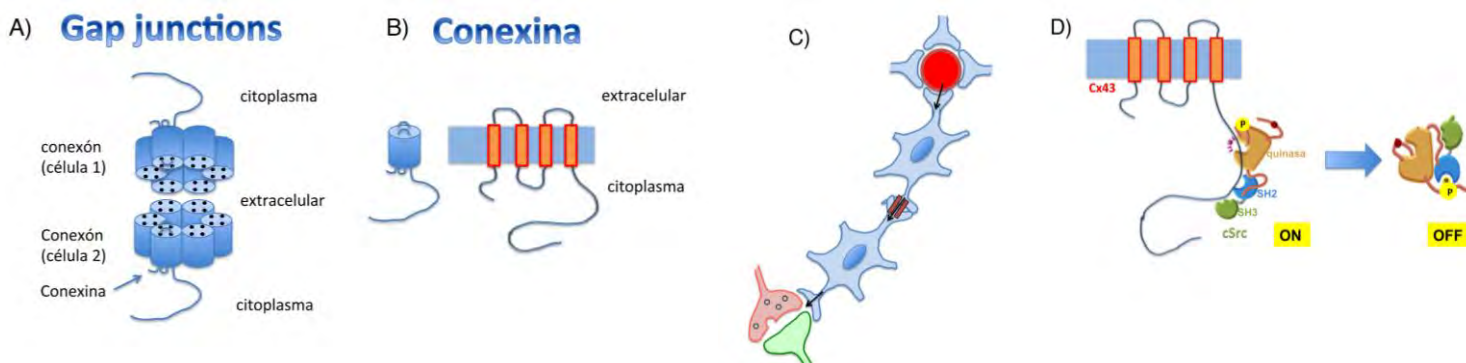


Figura. A) Estructura de las uniones comunicantes o “gap junctions”. B) Topología de la conexina. C) Canalización de sustratos desde la sangre hasta las neuronas por las uniones comunicantes de los astrocitos. D) El extremo carboxilo terminal de la conexina-43 inactiva c-Src.

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



El metabolismo del cáncer

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2013.08.1

Cristina Muñoz-Pinedo

Grupo de Regulación de la Muerte Celular. Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge (IDIBELL)

Biografía

Cristina Muñoz-Pinedo es licenciada en Biología por la Universidad de Sevilla. Realizó su tesis doctoral en Granada, en el Instituto de Parasitología y Biomedicina (CSIC), bajo la dirección de Abelardo López Rivas con quien estudió la muerte celular inducida por la inhibición del metabolismo de nucleótidos y por ligandos de muerte. Tras varias estancias en grupos que trabajaban en distintos aspectos de la muerte celular, realizó una estancia postdoctoral de 2002 a 2005 en San Diego (EEUU), en La Jolla Institute for Allergy and Immunology en el grupo de Doug Green, y posteriormente durante unos meses en St. Jude Children's Research Hospital en Memphis (EEUU). Durante este período estudió el papel de las mitocondrias como "víctimas" y ejecutoras de la apoptosis. Se incorporó en 2006 al Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge (IDIBELL) como investigadora Miguel Servet donde dirige el grupo de Regulación de la Muerte Celular.

Resumen

El metabolismo del cáncer es diferente del de las células que no proliferan. Los oncogenes y los genes supresores de tumores modifican el metabolismo para adaptar el uso de nutrientes al crecimiento celular.

Summary

Cancer metabolism is different from metabolism of non-proliferating cells. Oncogenes and tumor suppressors regulate metabolism to couple nutrient consumption to cell growth.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA: http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

La mayoría de los tejidos utilizan la respiración mitocondrial para producir energía a partir de nutrientes. Sin embargo, en 1924, el que fuera posteriormente premio Nobel, Otto Warburg, observó que las células tumorales hacían algo diferente de lo que hacían los tejidos adyacentes. Las células tumorales usaban mucha más glucosa, y consumían mucho menos oxígeno. Esto le llevó a proponer que las células tumorales tenían el sistema respiratorio dañado, y que el cambio del metabolismo respiratorio al metabolismo fermentativo era causal en la tumorigénesis [1].

Posteriormente, con el descubrimiento de los oncogenes y los genes supresores de tumores, el metabolismo tumoral quedó bastante olvidado. Sin embargo, en los últimos años se ha producido una revolución porque hemos aprendido que la "transformación metabólica" está íntimamente ligada a la transformación oncogénica [2]. Cuando una célula se ve forzada a crecer y multiplicarse, tiene forzosamente que readaptar su metabolismo. La producción de ATP pasa a ser menos relevante que el uso de nutrientes para generar ácidos nucleicos, proteínas y ácidos grasos (Figura 1). Esto conlleva un aumento de la tasa glicolítica, que lleva asociada una mayor producción de ácido láctico. Según el tipo celular y el tipo de oncogenes, también se produce un aumento de la ruta de las pentosas fosfato y la síntesis de nucleótidos *de novo*, de la síntesis de proteínas y ribosomas, y de la síntesis de ácidos grasos y esteroides. Las células tumorales también aumentan el uso y el transporte de glucosa y de aminoácidos. En cambio, la respiración mitocondrial disminuye [3].

La posibilidad de explotar estos cambios metabólicos mediante el uso de fármacos con fines antitumorales está despertando un gran interés en los laboratorios biomédicos y en la industria farmacéutica. ¿Por qué pensamos que los inhibidores del metabolismo glicolítico podrían funcionar como terapia frente a algunos tumores? En primer lugar, las células tumorales captan más glucosa, y también captan más inhibidores de la glicólisis como la 2-desoxiglucosa. En esto se basa la técnica PET (tomografía por emisión de positrones) que permite visualizar muchos tumores usando como marcador un análogo de la glucosa. Sin embargo, otros muchos órganos captan estos análogos de glucosa, y otros tejidos necesitan glucosa para su funcionamiento. ¿Por qué son las células tumorales más sensibles a la falta de nutrientes? Todavía estamos intentando entenderlo, pero parece ser que la razón está en la incapacidad de las células tumorales de frenar el ciclo celular cuando no tienen suficientes nutrientes o energía [4]. De alguna manera, mientras que las células no transformadas adaptan su metabolismo y paran el crecimiento si no hay suficientes nutrientes, las células tumorales están



estimuladas para proliferar de forma incontrolada, y sufren un colapso cuando se quedan sin reservas. Esto provoca que entren en apoptosis [5].

En realidad, las terapias anti-metabólicas no son nuevas. De hecho, llevan muchos años usándose en la clínica. El fluorouracilo y otros análogos de nucleótidos, y el metotrexato, son inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos y funcionan porque causan más muerte en las células tumorales que en otros tejidos. Desgraciadamente, sin embargo, es posible que con las terapias anti-metabólicas ocurra lo mismo que con muchas formas de quimioterapia: que los efectos secundarios sean muy desagradables para el paciente. Entre otras cosas, probablemente un efecto secundario será la depresión del sistema inmune (como ocurre con el metotrexato), ya que muchas de las células del sistema inmune proliferan rápidamente y tienen un metabolismo muy parecido al de las células tumorales.

Por todo esto, actualmente intentamos comprender qué cambios metabólicos se asocian específicamente a qué tipos de tumores. En la década de la medicina personalizada también intentamos entender qué mutaciones oncogénicas dan lugar a cambios metabólicos específicos, y si estas mutaciones provocan sensibilidad a la falta de un nutriente concreto.

No sólo está resurgiendo el estudio del metabolismo de los tumores, sino que estamos redescubriendo en el siglo XXI nuevas rutas metabólicas y nuevas formas de regular las rutas conocidas. El estudio de las regulaciones alostéricas de los enzimas metabólicos está dando paso al estudio de la regulación de su expresión y de modificaciones posttranscripcionales como la fosforilación, glicosilación,

acetilación, que son consecuencia de la señalización ejercida por oncogenes y por señales extracelulares. Gracias a nuevas técnicas de metabolómica estamos comprendiendo mejor los flujos metabólicos en células vivas. Incluso se están desarrollando nuevas técnicas para poder visualizar *in vivo* en el laboratorio, e incluso en pacientes, los cambios en el metabolismo asociados a la formación de tumores.

En resumen, tenemos aún mucho por descubrir en el metabolismo del cáncer. Si no podemos atacar las moléculas directamente responsables de causar un tumor (los oncogenes), quizá sí que podamos inhibir los enzimas metabólicos que sean necesarios para mantener ese tumor.

Referencias

- 1) Warburg, O., On respiratory impairment in cancer cells. Science, 1956. 124: p. 269.
- 2) Vander Heiden, M.G., L.C. Cantley, and C.B. Thompson, Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. Science, 2009. 324(5930): p. 1029-33.
- 3) Willers, I.M. and J.M. Cuezva, Post-transcriptional regulation of the mitochondrial H(+)-ATP synthase: a key regulator of the metabolic phenotype in cancer. Biochim Biophys Acta, 2011. 1807(6): p. 543-51.
- 4) Jones, R.G. and C.B. Thompson, Tumor suppressors and cell metabolism: a recipe for cancer growth. Genes Dev, 2009. 23(5): p. 537-48.
- 5) El Mjiyad, N., et al., Sugar-free approaches to cancer cell killing. Oncogene, 2011. 30(3): p. 253-64.
- 6) www.cancer-metabolism.org

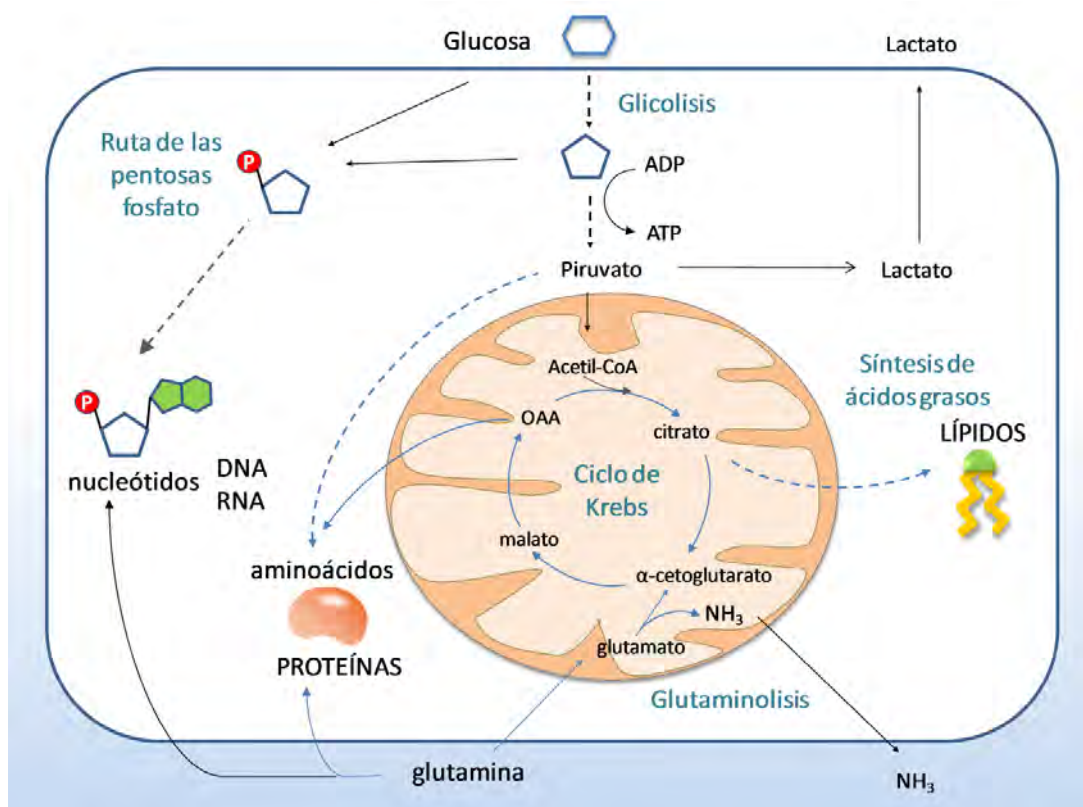


Figura. El metabolismo de las células proliferativas

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



El simportador de yodo, desde su fisiología hasta su uso diagnóstico y terapéutico

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2013.09.1

Pilar Santisteban

Dpto. de Fisiopatología Endocrina y del Sistema Nervioso, Instituto de Investigaciones Biomédicas “Alberto Sols”, CSIC-UAM

Biografía

Pilar Santisteban es Profesora de Investigación del CSIC en el Instituto de Investigaciones Biomédicas (IIB) de Madrid. Licenciada en Biología por la Universidad Complutense de Madrid y Doctora por la Universidad Autónoma (1980). Realizó su estancia postdoctoral en NIH, Bethesda (USA) (2003-2007) donde describió la regulación de la función tiroidea por IGF1 y participó en la clonación de antígenos tiroideos. Actualmente dirige un grupo de investigación en el que se estudian aspectos básicos de la función tiroidea y translacionales aplicados al cáncer de tiroides. Su trabajo ha dado lugar a importantes contribuciones científicas, por las que ha recibido diversas distinciones, como la Medalla Lilly de la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición (SEEN), en 2011. Compagina su trabajo con el cargo de Coordinadora Científica del Programa Consolider-Ingenio y con el de Gestora del Plan Nacional de Biología Molecular y Celular (2005-2009). Ha sido vocal de las Juntas Directivas de distintas sociedades científicas, destacando la de vicepresidenta de la SEEN.

Resumen

La entrada de yodo en el tiroide a través del simportador de yodo NIS ha sido la base diagnóstica y terapéutica del tratamiento con radioyodo del cáncer diferenciado de tiroides y sus metástasis. Entender la regulación de NIS es crucial para desarrollar nuevas estrategias que mejoren el tratamiento de los pacientes con tumores tiroideos refractarios al radioyodo.

Summary

The uptake of iodide through the iodide symporter NIS has long provided the basis for diagnosis and therapeutic management of thyroid cancer with radioactive iodide. Understanding NIS regulation will help to develop new strategies to improve the treatment of thyroid cancer patients with refractory metastatic disease.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

La función principal del tiroides es producir las hormonas tiroideas triyodotironina (T3) y tetrayodotironina o tiroxina (T4), las cuales son las únicas hormonas que contienen yodo en los vertebrados. El yodo es por tanto el componente esencial de estas hormonas, por lo que la función tiroidea depende de su adecuado aporte a la glándula. Además esta propiedad de acumular yodo ha sido la base del diagnóstico y el tratamiento del hipertiroidismo y del cáncer diferenciado de tiroides y sus metástasis. El yodo entra en el tiroides a través del simportador NIS (Na^+/I^- Symporter) (1), una proteína que atraviesa 13 veces la membrana basal de la célula folicular tiroidea y que transporta el yodo hacia la membrana apical por donde sale al coloide (Fig1, izq) La función de NIS está regulada positivamente por la hormona hipofisaria TSH, vía cAMP, y negativamente por IGF1/PI3K/Akt y TGF β /Smads (2).

Oncogenes en cáncer de tiroides.- La célula folicular tiroidea diferenciada puede dar lugar a tumores benignos y malignos y estos últimos se clasifican en bien diferenciados, pobremente diferenciados e indiferenciados. El bien diferenciado se clasifica a su vez en dos sub-tipos, folicular y papilar, siendo ésta la neoplasia tiroidea más frecuente. El tratamiento con radioyodo, es el método diagnóstico y terapéutico del cáncer diferenciado de tiroides obteniéndose muy buenos resultados. Por ello, y a pesar de ser el tumor endocrino de mayor incidencia, estos tumores tienen buen pronóstico. Sin embargo algunos carcinomas diferenciados pierden la capacidad de captar yodo dando metástasis refractarias al yodo radioactivo, lo cual empeora considerablemente su pronóstico. Finalmente, los carcinomas indiferenciados o anaplásicos son tumores muy raros aunque altamente malignos y en los que no se encuentra ningún rastro de diferenciación tiroidea (Fig. 1).

La mutación V^{600E} de BRAF, los reordenamientos de RET/PTC y las mutaciones en RAS, se han relacionado con la génesis de los carcinomas papilares. Su expresión es mutuamente excluyente y los tres activan un programa común de expresión génica dependiente de la vía MEK-ERK, que es esencial para la proliferación y la capacidad

invasiva de estos tumores. De manera similar, las mutaciones en genes de la vía de la PI3K, mutaciones puntuales en AKT, mutaciones y amplificaciones en PI3KCA y mutaciones inactivadoras en el gen supresor PTEN, están implicadas en la génesis de los carcinomas foliculares. Otras mutaciones en el gen de la β catenina (CTNNB1) y de P53 se han identificado en los carcinomas más indiferenciados (3); (Fig.1).

En nuestro grupo hemos estudiado el mecanismo subyacente a la pérdida de la capacidad de captar radioyodo de algunos tumores tiroideos diferenciados y que dan lugar a metástasis. Hemos demostrado que el oncogén BRAF-V^{600E} se asocia a metástasis refractarias al radioyodo porque reprime la expresión de NIS tanto a nivel transcripcional como postranscripcional, siendo este efecto MEK-ERK independiente (4). Así, BRAF induce la secreción de TGF β , citoquina que a través de un bucle autocrino reprime la función de NIS y promueve la transición epitelio mesénquima y la capacidad invasiva de las células. Además hemos observado que existe una alta actividad de la vía TGF β /Smads en las muestras humanas de cáncer de tiroides que se asocian con invasión extratiroidea, metástasis ganglionares, presencia del oncogén BRAF y la pérdida de expresión de NIS (5). Actualmente un tema de estudio con gran proyección translacional es el inhibir la actividad BRAF, la actividad MEK-ERK y la vía de TGF β , con idea de reinducir la captación de radioyodo e inhibir las metástasis de este tipo de tumores. Existen ya compuestos comerciales y ensayos clínicos en fase avanzada de estudio.

NIS y terapia génica.- Dada la alta eficacia y los pocos efectos secundarios del tratamiento con yodo radioactivo en el cáncer diferenciado de tiroides sería deseable poder aplicar este tratamiento a otros cánceres. Esto es posible gracias a la terapia génica, es decir, la transferencia mediante un vector viral de un gen ectópico al tejido tumoral, para que de forma directa o indirecta induzca destrucción tumoral. El gen NIS es un excelente candidato para terapia génica porque tiene la virtud única de poder ser utilizado como un gen reportero y terapéutico a la vez. Aunque el camino que hay que recorrer para aplicar la terapia génica en humanos es todavía grande, debido al problema no resuelto de la toxicidad viral en tejidos no tumorales, existen múltiples estudios *in vivo* muy prometedores usando este transportador. La utilización de promotores específicos de tejido ha supuesto un avance en terapia génica ya que permite una expresión selectiva del gen en la célula maligna del tejido en cuestión, minimizando los efectos secundarios en las células no malignas. En nuestro grupo hemos inducido la expresión de NIS bajo el control de los promotores de la telomerasa, una aproximación que permite una captación eficiente y selectiva de yodo radioactivo en una amplia variedad de células de cáncer humano así como un marcado efecto

terapéutico del ¹³¹I mediado por NIS en ratones desnudos inoculados con dichas células tumorales (6).

Referencias

- 1.- Dai, G., Levy, O and Carrasco N. Cloning and characterization of the thyroid iodide transporter. *Nature*. 379:458-60 (1996)
- 2.- Riesco-Eizaguirre, G., and P. Santisteban. 2006. A perspective view of sodium iodide symporter research and its clinical implications. *Eur J Endocrinol* 155:495-512 (2006)
- 3.- Riesco-Eizaguirre G and Santisteban P. New insights in thyroid follicular cell biology and its impact in thyroid cancer therapy. *Endocrine Related Cancer* 14: 957-977 (2007)
- 4.- Riesco-Eizaguirre G, García-Cabezas M.A., Nistal, M., Gutierrez-Martínez, P. Santisteban, P. The oncogene BRAFV600E is associated with high risk of recurrences and less differentiated papillary thyroid carcinoma due to the impairment of NIS targeting to membrane. *Endocrine-Related Cancer* 13: 257-269 (2006)
- 5.- Riesco-Eizaguirre G, Rodríguez I, De la Vieja A, Costamagna E, Carrasco N Nistal M and Santisteban P. The BRAFV600E oncogene induces TGFbeta secretion leading to Sodium Iodide Symporter (NIS) repression and increased malignancy in thyroid cancer. *Cancer Research* 69: 8317-8325 (2009)
- 6.- Riesco-Eizaguirre G, De la Vieja A, Rodríguez I, Miranda S, Martín-Duque P, Vassaux G and Santisteban P. Telomerase-driven Expression of the Sodium Iodide Symporter (NIS) for In vivo Radioiodide Treatment of Cancer: A New Broad-spectrum NIS-mediated Antitumour Approach. *J Clinical Endocrinology & Metabolism* 96: E1435-1443 (2011)

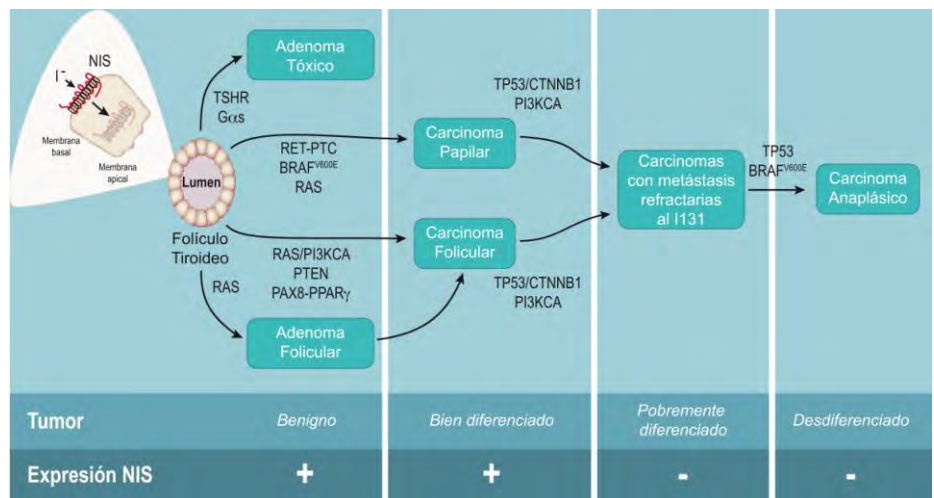


Figura. Modelo de carcinogénesis tiroidea. El modelo se basa en los datos publicados sobre las características clínicas, histológicas y el grado de diferenciación de los tumores tiroideos. A la izquierda se representa una célula epitelial tiroidea diferenciada, señalando la membrana basal donde se localiza el simportador de I⁻ (NIS) y la membrana apical que se orienta hacia el lumen del folículo tiroideo. La célula tiroidea diferenciada puede dar lugar tanto a tumores benignos como malignos, dependiendo de los genes (oncogenes y/o supresores tumorales) que se activen y que se señalan en la figura en los distintos pasos de la carcinogénesis. Así mismo se indica la expresión de NIS. Ello es fundamental para el tratamiento del cáncer de tiroides con radioyodo. Las dos entidades malignas vienen representadas por los tumores pobremente diferenciados que cursan con metástasis refractarias al I131 y por los tumores totalmente desdiferenciados.

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



La resolución estructural como herramienta para la definición de dominios y zonas de interacción

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2013.10.1

Jerónimo Bravo Sicilia

Instituto de Biomedicina de Valencia, CSIC

Biografía

Tras su licenciatura en la Universidad Autónoma de Barcelona, obtuvo un Master mediante el estudio de marcadores tumorales para el cáncer de páncreas. En el año 1991 inició su tesis doctoral en la Universitat Politècnica de Catalunya con el Dr. I. Fita sobre estudios de detoxificación de especies reactivas de oxígeno y estructura de catalasas. En 1996 se trasladó al "Laboratory of Molecular Biophysics" con la Dra Y. Jones de la Universidad de Oxford para el estudio de citoquinas como LIF y oncostatina, y receptores celulares de transducción de señales. En 1998 se desplazó al grupo de R. Williams en el "Molecular Biology Laboratory" (MRC) en Cambridge. Allí se centró en la especificidad de los dominios PX para fosfolípidos y sus mecanismos de reclutamiento a membranas y estudios sobre factores de transcripción involucrados en anomalías genéticas presentes en la leucemia aguda. En el 2002 se incorpora al CNIO como jefe del grupo de transducción de señales, donde continuó con sus intereses en regulación de receptores y la caracterización molecular de fenómenos tumorales. En 2009 se incorpora al Instituto de Biomedicina de Valencia del CSIC.

Resumen

Se pretende poner de manifiesto la utilidad de las determinaciones estructurales a nivel atómico para la caracterización de nuevos dominios, la definición precisa de sus límites y para la descripción de las superficies de interacción en estructuras de complejos de macromoléculas.

Summary

We aim to show the atomic structural resolution as a tool for the characterization of new domains, their boundaries definition and for the description of interaction surfaces in structures of macromolecular complexes.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

La resolución estructural de proteínas y complejos macromoleculares es una herramienta muy útil a la hora de caracterizar los mecanismos moleculares que llevan a cabo las proteínas y los complejos en los que participan. A menudo la determinación de la estructura completa o alguno de sus dominios permite aclarar aspectos poco dilucidados o cuestiones planteadas con anterioridad, además de posibilitar la formulación de hipótesis nuevas de trabajo. Se entiende por dominio la parte conservada de una secuencia de proteína que puede evolucionar, funcionar y existir de forma independiente al resto de la cadena proteica. La evolución molecular utiliza los dominios como bloques de construcción que pueden combinarse para crear proteínas con funciones diferentes (1).

Una vez resuelta la estructura de una nueva proteína se puede realizar una búsqueda de similitud estructural con estructuras previamente determinadas que puede arrojar pistas sobre la funcionalidad de dominios o regiones desconocidas, aunque el grado de homología de secuencia sea bajo. Esto es posible gracias a que la estructura en proteínas está mucho más conservada que la secuencia de aminoácidos; en concreto se ha cuantificado que entre tres y diez veces (2). De modo que una primera utilidad de la resolución estructural es la identificación de dominios funcionales gracias al mayor grado de conservación que la estructura presenta respecto a la secuencia.

Otro aspecto importante derivado de la resolución de estructuras es la correcta definición de los límites que abarcan los mencionados dominios. A menudo se realizan mutantes de supresión para estudiar las relaciones de estructura función existentes en un dominio, o bien el efecto de los mismos en el contexto de sus proteínas completas. Para ello resulta de mucha utilidad recurrir a las estructuras tridimensionales depositadas en las bases de datos (www.rcsb.org) donde se pueden realizar búsquedas de homología de secuencia con estructuras ya resueltas y poder así definir con mayor precisión los límites de los dominios objeto de estudio. Así pues la estructura permite el diseño de construcciones mejor definidas que facilitan el estudio de los dominios aislados o el efecto de su eliminación en el contexto de las proteínas completas. En ausencia de información estructural, se cometen a menudo errores en la definición de los límites de cada dominio cuando las homologías de secuencia no son muy claras, con las consecuencias posteriores en las conclusiones obtenidas a partir de experimentos realizados con dichas construcciones (3).

Un tercer aspecto importante y ampliamente extendido en la bibliografía es la definición

de superficies de interacción entre componentes de un complejo. La determinación estructural de complejos a nivel atómico permite caracterizar los dominios o las regiones de interacción que participan en la formación de dicho complejo.

Estos tres aspectos se ponen de manifiesto por ejemplo en la resolución de la estructura del complejo entre la proteína Rbg1, de la familia DRG, y su compañera Tma46 (4). Las proteínas DRG (*Developmentally Regulated GTP-binding*) constituyen una familia de GTPasas muy conservada que se asocian con proteínas DFRP (*DRG Family Regulatory Proteins*) para participar en procesos de traducción eucariota (5). La estructura de Rbg1 en complejo con la región C-terminal de su ligando celular DFRP, Tma46 revela que las proteínas DRG son multimodulares con 3 dominios hélice-giro-hélice (HTH), un nuevo dominio denominado S5D2L y otro dominio TGS C-terminal que empaquetan contra la plataforma que representa el dominio GTPasa. El dominio S5D2L no había sido descrito en la familia y se encuentra como un dominio independiente que emerge a modo de inserción en medio de la secuencia GTPasa. La comparación estructural con proteínas depositadas en las bases de datos demostró que, a pesar de no haber homología de secuencia, el dominio presenta una topología similar a la superfamilia “*Ribosomal protein D5 domain 2-like*” y de ahí su nomenclatura. La similitud estructural con proteínas ribosomales permite establecer interesantes correlaciones con la funcionalidad del complejo Rbg1/Tma46 en traducción de la expresión génica. Así mismo la estructura del dominio TGS C-terminal permite definir sus límites de forma precisa, corrigiendo algunas conclusiones previamente establecidas respecto a la participación de

este dominio en la familia DRG y estableciendo nuevas funcionalidades no caracterizadas (4). La resolución estructural ha permitido abordar estudios funcionales y dilucidar por ejemplo que el dominio TGS de Rbg1 es esencial para el reclutamiento del factor Rbg1 a los polisomas, apoyando la idea de que los factores DRG desempeñan un papel en regulación de la expresión génica y concretamente en la traducción.

La estructura permite definir la zona de interacción en el heterodímero y muestra además que la región de Tma46 que interacciona con Rbg1 adopta una conformación no globular extendida típica de las proteínas intrínsecamente desestructuradas. También clarifica que Tma46 contacta con Rbg1 únicamente a través de los dominios GTPasa y TGS.

Referencias

- 1- Wetlaufer DB. Proc Natl Acad Sci U S A. 1973;70:697–701
- 2- Illergård K, Ardell DH, Elofsson A. *Proteins*. 2009 Nov 15;77(3):499-508.
- 3- Holland TA, Veretnik S, Shindyalov IN, Bourne PE. *J Mol Biol*. 2006;361:562–590
- 4- Francis SM, Gas ME, Daugeron MC, Bravo J, Séraphin B. *Nucleic Acids Res*. 2012 Nov;40(21):11100-14
- 5- Leipe DD, Wolf YI, Koonin EV, Aravind L. *J Mol Biol*. 2002 Mar 15;317(1):41-72.

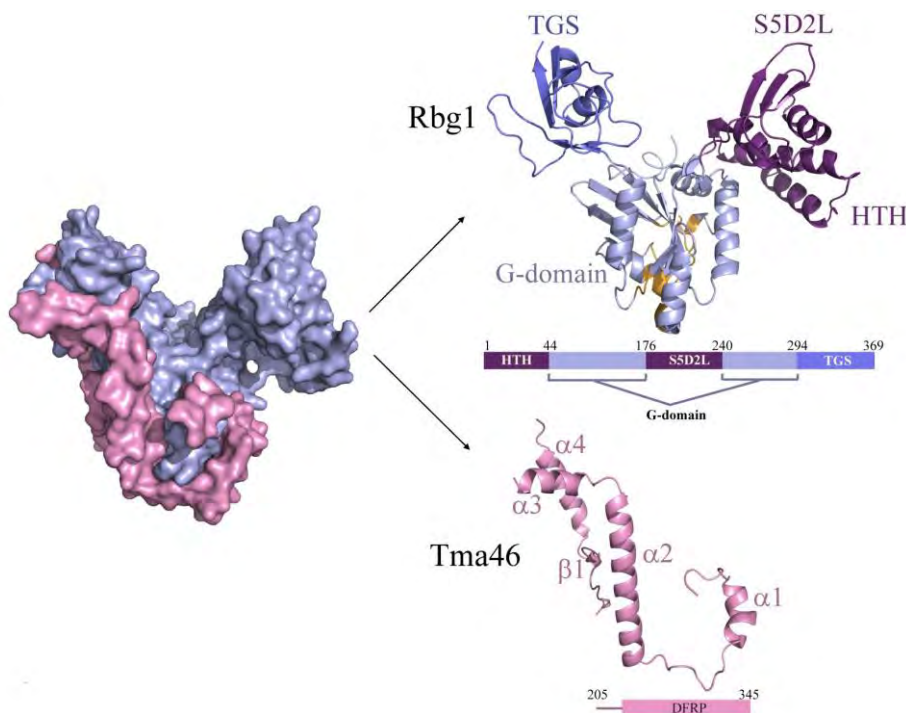


Figura. La estructura de Rbg1, en tonos de azul, muestra una proteína multimodular. La región C-terminal de su DFRP (en rosado) envuelve a la GTPasa formando una superficie extensa de interacción. Copyright: Oxford University Press (2012).

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



Vitamina D y Cáncer

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2013.11.1

Alberto Muñoz Terol

Instituto de Investigaciones Biomédicas de Madrid (IIBM)

Biografía Resumen

Alberto Muñoz es Profesor de Investigación del CSIC en el Instituto de Investigaciones Biomédicas de Madrid (IIBM). Doctor en Ciencias por la Universidad Autónoma de Madrid, trabajó en el European Molecular Biology Laboratory (Heidelberg) y el Institut für Molekulare Pathologie (Viena) sobre los genes *erbA*, contribuyendo a la caracterización de la proteína *c-erbA* como el receptor de las hormonas tiroideas. En el IIBM ha investigado los efectos de estas hormonas y los genes *erbA* en el cerebro y la glándula mamaria, y desde 1999 estudia la acción de la vitamina D, la vía *Wnt/beta-catenina* y su interrelación en cáncer de colon. Ha sido Coordinador de Biología Molecular y Celular en la ANEP y miembro y Coordinador Adjunto del Área Biología y Biomedicina del CSIC, es Patrono de la Fundación Científica de la Asociación Española contra el Cáncer y ha recibido varios premios por sus trabajos sobre receptores nucleares y cáncer.

La vitamina D, o más exactamente su metabolito la 1 α ,25-dihidroxitamina D₃ (1 α ,25(OH)₂D₃, calcitriol), es uno de los principales reguladores de la expresión génica. Modula la transcripción de centenares de genes y la actividad de enzimas y vías de señalización. Sus efectos sobre la proliferación y diferenciación celulares han disparado el interés en la 1 α ,25(OH)₂D₃.

Summary

Vitamin D, particularly its metabolite 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ (1 α ,25(OH)₂D₃, calcitriol), is a main regulator of gene expression. 1 α ,25(OH)₂D₃ modulates the transcription rate of hundreds of genes and the activity of several enzymes and signalling pathways. A series of novel effects recently described make of 1 α ,25(OH)₂D₃ an attractive subject of study.

<http://www.sebbm.es/>
HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

El sistema de la vitamina D. Una vitamina es un compuesto que el organismo necesita pero no puede sintetizar, y, por ello, debe obtener del medio. La vitamina D (vitamina D₃ o colecalciferol en el reino animal) no es según esta definición una vitamina, pues el 90% de la presente en el organismo se sintetiza en la piel por la acción de la luz ultravioleta (UV)-B solar sobre el 7-dihidrocolesterol. La dieta humana es pobre en vitamina D y sólo cubre el 10% de las necesidades del organismo. El colecalciferol, inactivo biológicamente, es hidroxilado en el hígado y posteriormente en el riñón, colon, mama, próstata, hueso y diversos tipos de células del sistema inmune formándose 1 α ,25-dihidroxitamina D₃ (1 α ,25(OH)₂D₃, calcitriol), la molécula activa, que actúa como una hormona con alta afinidad de unión a VDR, receptor de la vitamina D. VDR es un factor de transcripción de la superfamilia de receptores nucleares expresado en todos los tipos celulares del organismo en los que se ha investigado, que se une a secuencias específicas de nucleótidos (elementos de respuesta a vitamina D o VDRE) presentes cerca o en los genes cuya transcripción controla. La unión de la 1 α ,25(OH)₂D₃ al VDR causa una serie de cambios en las interacciones de éste con diversas proteínas (co-activadores y correpressores transcripcionales) que determinan la inducción o represión de la transcripción génica. Tres estudios de ChIP-Seq en distintos tipos celulares han identificado más de mil sitios de unión de VDR en el genoma humano y, conjuntamente con estudios transcriptómicos empleando *arrays*, sugieren la existencia de centenares de genes regulados por la 1 α ,25(OH)₂D₃ (1). Además, la 1 α ,25(OH)₂D₃ induce efectos rápidos independientes de transcripción que incluyen la regulación de canales iónicos, fosfolipasas, quinasas y fosfatasas.

Durante décadas se ha considerado a la vitamina D un regulador de la absorción intestinal de calcio y fósforo y de la biología de osteoblastos y osteoclastos en el hueso. Esta visión ha cambiado radicalmente desde que en 1981 se describió que la 1 α ,25(OH)₂D₃ inhibe la proliferación de células humanas de melanoma e induce la diferenciación de células leucémicas de ratón. Estos resultados, y otros muchos desde entonces, mostrando la capacidad de la 1 α ,25(OH)₂D₃ de inhibir la proliferación e inducir la diferenciación de células cancerosas en cultivo y su tumorigenicidad en modelos animales, de modular diversas respuestas del sistema inmune y de ejercer acciones antimicrobianas han disparado el

interés del estudio del sistema de la vitamina D. Esto se refleja en un crecimiento exponencial del número de publicaciones, que en 2012 fueron 3.600 en PubMed.

Vitamina D y cáncer. La posible acción preventiva y/o terapéutica de la vitamina D y sus derivados se está estudiando en pacientes con diversos tipos de cáncer, siendo los datos en cáncer colorrectal especialmente esperanzadores. Estudios epidemiológicos indican una relación inversa entre la ingesta de vitamina D en la dieta o la exposición a la luz solar y el cáncer colorrectal. Más aún, los niveles de calcidiol (25(OH)D₃) en el suero se correlacionan inversamente con el riesgo de desarrollar cáncer colorrectal, y en menor medida otras neoplasias (2), y un meta-análisis ha descrito que concentraciones sanguíneas de calcidiol de 82 nM se asocian a una reducción del 50% del riesgo de esta neoplasia (3), la de mayor incidencia en España. Existen numerosos ensayos clínicos empleando tratamientos, únicos o combinados con quimioterapia u otros compuestos, con vitamina D₃, 1 α ,25(OH)₂D₃ o análogos (www.clinicaltrials.gov). En esta línea, un informe publicado en 2008 titulado *Vitamin D and Cancer* de la *International Agency for Research on Cancer*, perteneciente a la *World Health Organization*, concluye que la relación causal entre la deficiencia de vitamina D y el cáncer colorrectal es **probable**, pendiente de mayores estudios epidemiológicos y clínicos prospectivos. Una reciente revisión de los ensayos clínicos realizados asume que por defectos en su diseño o ejecución no es posible aún definir la utilidad de la vitamina D y sus derivados en la prevención y/o terapia antitumoral (4).

Mecanismo de acción de la 1 α ,25(OH)₂D₃ en cáncer de colon. Nuestro grupo inició en 1999 el estudio de los efectos de la 1 α ,25(OH)₂D₃ en células humanas de cáncer de colon. Hemos descrito que la 1 α ,25(OH)₂D₃ induce la expresión de E-cadherina, proteína fundamental para la adhesión intercelular en epitelios cuya expresión se pierde en la transición de adenoma a carcinoma, considerada un

Referencias

1. Carsten, C. and Campbell, M.J. Vitamin D receptor signaling mechanisms: integrated actions of a well-defined transcription factor. *Steroids*, 78: 127-136, 2013
2. Giovanucci E. Epidemiology of vitamin D and colorectal cancer. *Anticancer Agents Med Chem*, 13: 11-19, 2013
3. Deeb et al. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nat Rev Cancer*, 7: 684-700, 2007
4. Lazzaroni et al. Vitamin D supplementation and cancer: review of randomized controlled trials. *Anticancer Agents Med Chem*, 13: 118-125, 2013
5. Pálmer et al. Vitamin D₃ promotes the differentiation of colon carcinoma cells by the induction of E-cadherin and the inhibition of β -catenin signaling *J Cell Biol*, 154: 369-387, 2001
6. Pereira et al. Vitamin D and colon cancer. *Endocr-Rel Cancer*, 19: R51-71, 2012
7. Pálmer et al. The transcription factor SNAIL represses vitamin D receptor expression and responsiveness in human colon cancer. *Nat Med*, 10: 917-919, 2004

supresor de invasividad (5). Además, la 1 α ,25(OH)₂D₃ antagoniza la vía Wnt/ β -catenina, iniciadora y crucial en carcinogénesis colorrectal, por al menos tres mecanismos:

a) la inducción de interacción directa entre VDR y β -catenina, que causa la inhibición de la actividad transcripcional de la β -catenina; b) la redistribución de la β -catenina desde el núcleo a las uniones adherentes de la membrana plasmática; y c) la inducción de DICKKOPF (DKK)-1, un inhibidor de la vía (5,6) (Figura 1).

Varios estudios indican que la expresión de VDR se relaciona con un buen pronóstico de los tumores colorrectales, y que aumenta en los estadios tempranos de la progresión (pólipos y carcinomas de grado bajo), disminuyendo en los carcinomas avanzados. Nuestro grupo ha descrito la represión del gen VDR por los factores de transcripción SNAIL1 y SNAIL2, y la sobre-expresión de éstos en los tumores de colon en un número elevado de pacientes (7). Estos datos sugieren una eficacia mayor del tratamiento con la 1 α ,25(OH)₂D₃ y sus análogos en las etapas tempranas de la progresión del cáncer colorrectal y quizá especialmente en su prevención.

Hemos realizado estudios de transcriptómica y proteómica que han permitido identificar RNAs, microRNAs y proteínas cuya expresión está regulada por la 1 α ,25(OH)₂D₃ en células de cáncer de colon. Por su potencial interés en el control del fenotipo celular, algunos han sido estudiados en profundidad como *CST5*/cistatina D, un supresor tumoral, *SPROUTY-2*, un regulador de la señalización por el EGF y *KDM6B/JMJD3*, una demetilasa de histonas (6). En definitiva, la vitamina D es el precursor de una hormona, la 1 α ,25(OH)₂D₃, de importantísimos efectos pleiotrópicos con potencial aplicación clínica en cáncer y quizá otras enfermedades (autoinmunes, infecciosas, neurológicas) cuya biología constituye una interesante área de investigación.

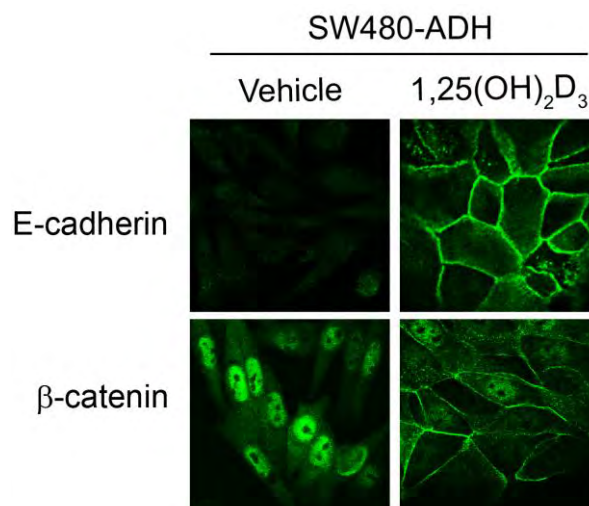


Figura. Imágenes de microscopía confocal de células humanas SW480-ADH de cáncer de colon mostrando por inmunofluorescencia la expresión de las proteínas E-cadherina y β -catenina tras 48 h de tratamiento con 1 α ,25(OH)₂D₃ o vehículo. La 1 α ,25(OH)₂D₃ induce la expresión de E-cadherina y la relocalización de β -catenina desde el núcleo a la membrana plasmática.

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS

Lípidos y lipidómica

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2013.12.1

Jesús Balsinde

Instituto de Biología y Genética Molecular (CSIC-UVA)



Biografía

Madrileño de Chamberí, Jesús Balsinde es Profesor de Investigación del CSIC y Director del Instituto de Biología y Genética Molecular de Valladolid. Obtuvo el doctorado en Ciencias Químicas por la Universidad Complutense de Madrid en 1990 por sus estudios sobre la hidrólisis de fosfolípidos durante la activación de células fagocíticas. Con posterioridad se desplazó al Departamento de Química y Bioquímica de la Universidad de California en San Diego, primero como posdoctoral y luego como Assistant Professor para realizar estudios sobre diferentes aspectos de la regulación de la biosíntesis de derivados oxigenados del ácido araquidónico. Después de regresar a España en 2001, su trabajo se ha centrado en la aplicación de aproximaciones lipidómicas al estudio de la respuesta inmune innata. Sus estudios recientes han permitido el descubrimiento de marcadores lipídicos de activación específicos de estímulo cuyas rutas metabólicas de síntesis pueden proporcionar nuevos blancos de intervención farmacológica.

Resumen

Los lípidos son fundamentales en la regulación de la señalización celular y por ello participan decisivamente en el mantenimiento de nuestros procesos homeostáticos. Pero además, los desequilibrios en el metabolismo lipídico causan un número variadísimo de patologías. Para poder tratar estas enfermedades con éxito, debemos saber primero qué lípidos están implicados y qué es lo que hacen. Para este fin contamos hoy en día con una poderosa herramienta: el análisis lipidómico basado en espectrometría de masas.

Summary

Lipids are key to signaling events in cells. Hence, they are the ultimate controllers and regulators of our bodily processes. Further, imbalances in lipids are the hallmark of a large number of illnesses. If we are going to cure these diseases, we must know what the lipids are and what they do. For this purpose we count today with a powerful tool: mass spectrometry-based lipidomics.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

En un artículo reciente en JBC, titulado con fina ironía “Ejerciendo la bioquímica sin permiso”, su autor H. Franklin Bunn –científico cuyo nombre está indisolublemente unido a la hemoglobina– nos cuenta que en el “otoño tardío” de su carrera científica se atrevió a adentrarse en el “arcano mundo de los lípidos” (1). La palabra arcano significa misterioso, secreto, oscuro, difícil de entender. Y sí, es innegable que, a diferencia de azúcares, proteínas y sobre todo ácidos nucleicos, los lípidos han transitado demasiado tiempo por caminos recónditos, procelosos y, sobre todo, muy poco glamurosos. Recordando que el papel biológico tradicionalmente asignado a los lípidos es el de ejercer funciones tan básicas como la formación de membranas o proveer de soporte energético a las células, todo esto puede llegar a entenderse y tal vez incluso a disculparse. Por fortuna, los tiempos siempre están cambiando y la imagen reciente de los lípidos ha mejorado notablemente con el descubrimiento de que, además de cumplir con misiones, digamos tan poco estimulantes, también son reguladores fundamentales de los procesos de transducción de señal que posibilitan la correcta comunicación intra y extracelular (2). Desde este nuevo punto de vista, puede por tanto decirse que en realidad los lípidos son las biomoléculas más importantes, ya que son imprescindibles y decisivos en la regulación de nuestros procesos vitales. Pero además, los desequilibrios en el metabolismo lipídico causan un gran número de enfermedades de elevada mortalidad y morbilidad, tales como los trastornos cardiovasculares, diabetes, artritis y Alzheimer entre muchas otras. Puesto que es obvio que nuestro objetivo como científicos ha de ser el de intentar curar estas enfermedades, una de nuestras primeras tareas deberá ser identificar qué lípidos están implicados y cuál es su función. Para dar respuesta a estas interrogantes disponemos hoy en día de un arma muy poderosa: la lipidómica.

Como viene implícito en su denominación, la lipidómica es el resultado de aplicar aproximaciones “ómicas” al estudio del total de lípidos presentes en un sistema biológico. O, dicho de forma más elegante, lipidómica es la “caracterización completa de las especies moleculares de naturaleza lipídica presentes en un sistema biológico, así como de sus funciones con respecto a la expresión de las enzimas y proteínas implicadas en su metabolismo y a su regulación génica” (3). Así pues, la lipidómica no sólo requiere complejos análisis, sino que la información a obtener ha de ser puesta en el contexto

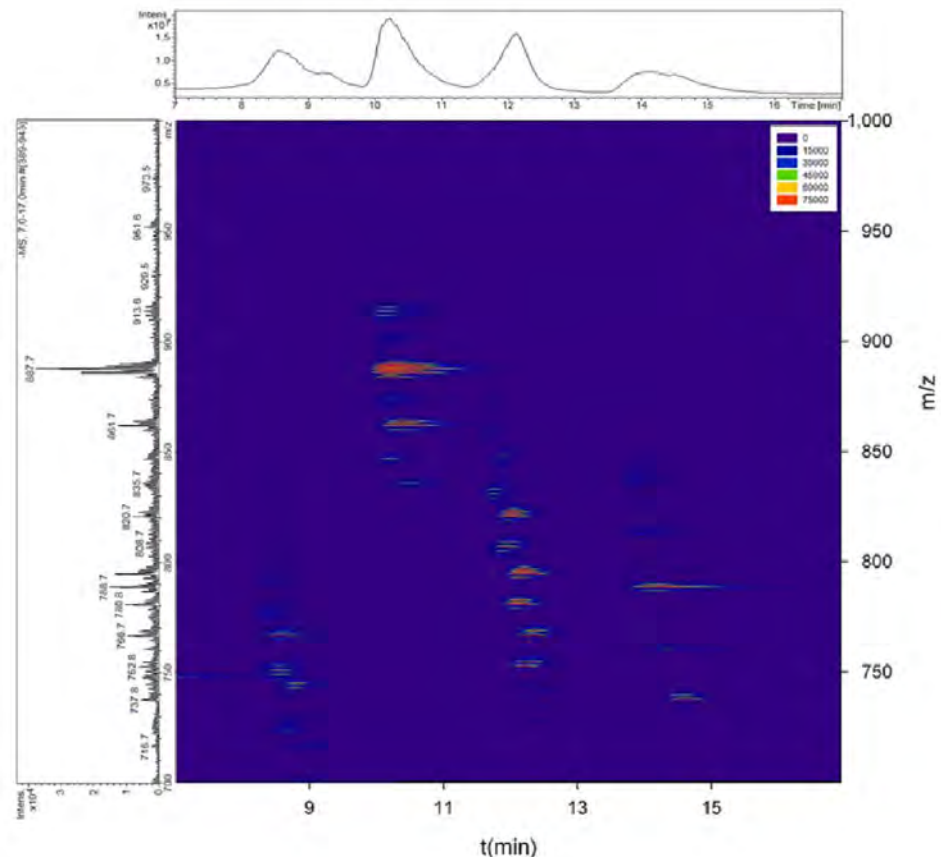


Figura. Separación e identificación de glicerofosfolípidos de un homogeneizado de células humanas U937 mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas. Abscisa: separación cromatográfica (tiempo de retención); ordenada: identificación por espectrometría de masas (relación masa/carga, m/z).

biológico adecuado a través de la caracterización paralela de enzimas, genes y cualquier otro factor relacionado. Adviértase pues el énfasis integrador de la lipidómica, que, como parte que es de la metabolómica, no pretende sino dotar de significado fisiopatológico al gran número de datos genómicos y proteómicos que las nuevas tecnologías nos ponen sobre la mesa. Y es que, en muchos casos, lo que es predictivo de enfermedad no es que un gen o proteína falten o se sobreexpresen, sino las variaciones que a nivel de metabolitos producen dichos cambios (4). De ahí que la lipidómica esté encontrando una utilidad cada vez mayor para el diagnóstico de diferentes patologías y, sobre todo, para la búsqueda de nuevos marcadores de enfermedad.

La herramienta por excelencia de la lipidómica es la espectrometría de masas. Gracias a esta tecnología es hoy posible identificar con gran sensibilidad (fmol-pmol) una enorme variedad de analitos ionizados en mezclas complejas según su relación masa/carga. También proporciona información estructural mediante la fragmentación de los iones producidos, lo que puede realizarse tantas veces como sea necesario. Entre los sistemas de ionización empleados habitualmente en lipidómica pueden mencionarse la ionización por electrospray (ESI), la ionización química a presión atmosférica (APCI) y la ionización/desorción láser asistida por matriz (MALDI). Los analizadores más utilizados son: trampa iónica, triple cuadrupolo y cuadrupolo-tiempo de vuelo (Q-ToF). Todas estas aplicaciones poseen sus ventajas e inconvenientes e, idealmente, la elección de la combinación fuente de ionización-analizador de iones a utilizar dependerá del tipo de muestra a estudiar y de la información que se espere obtener. Existen dos modalidades diferentes de análisis lipidómico,

denominadas genéricamente "lipidómica global" y "lipidómica dirigida". En la primera de ellas, el objetivo es analizar el lipidoma completo de una muestra biológica y se realiza en la mayoría de los casos inyectando la muestra directamente en el espectrómetro de masas ("shotgun lipidomics") (5). Ello redundaría en gran rapidez de análisis, pero presenta el problema de pérdida de señal, que impide la detección de determinadas especies. En la segunda estrategia, se busca estudiar sólo ciertas clases de lípidos, para lo cual el espectrómetro se acopla a un sistema de separación cromatográfica previa, lo que confiere gran sensibilidad, especificidad estructural y precisión cuantitativa (6).

Debido a su inherente complejidad, la investigación lipidómica presenta grandes desafíos. A diferencia de lo que ocurre con la genómica y la proteómica, no es posible estimar *a priori* ni el número ni la estructura química de todos los analitos que pueda haber en una muestra, ni es tampoco posible desarrollar métodos únicos para la extracción, separación y detección de tantas especies moleculares distintas. Pese a ello, o quizás precisamente por ello, el mundo de los lípidos bioactivos y la lipidómica concita últimamente tanto interés. Tal vez tildarlo de arcano no era mala idea después de todo.

Referencias

1. Bunn, H. F. (2013) Practicing biochemistry without a license. *J. Biol. Chem.* 288: 5062-5071.
2. Shimizu, T. (2008) Lipid mediators in health and disease: enzymes and receptors as therapeutic targets for the regulation of immunity and inflammation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 49: 123-150.
3. Spener, F., Lagarde, M., Géløen, A. & Record, M. (2003) What is lipidomics? *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 105: 481-482.
4. Dennis, E. A. (2009) Lipidomics joins the omics evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106: 2089-2090.
5. Han, X. & Gross, R.W. (2005) Shotgun lipidomics: electrospray ionization mass spectrometric analysis and quantitation of cellular lipidomes directly from crude extracts of biological samples, *Mass Spectrom. Rev.* 24, 367-412.
6. Myers, D.S., Ivanova, P.T., Milne S.B. & Brown H.A. (2011) Quantitative analysis of glycerophospholipids by LC-MS: acquisition, data handling, and interpretation. *Biochim. Biophys. Acta* 1811: 748-757.

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS

Inflamación y macrófagos: amigos o enemigos

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2014.01.1

Sonsoles Hortelano

Grupo de Terapias Farmacológicas. Instituto de Investigaciones de Enfermedades Raras (IIER), ISCIII



Biografía Resumen

Sonsoles Hortelano Blanco se licenció en Farmacia en la Universidad Complutense de Madrid, donde posteriormente realizó su tesis doctoral bajo la dirección del Dr. Lisardo Boscá, estudiando la regulación de la óxido nítrico sintasa inducible. Durante su etapa postdoctoral, se interesó en el estudio de las bases moleculares de la respuesta inflamatoria, así como en la identificación de nuevos agentes terapéuticos principalmente derivados de productos naturales. En el año 2009, se incorporó como Científica Titular de OPIs al Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), donde actualmente dirige la unidad de Terapias Farmacológicas del Instituto de Investigaciones de Enfermedades Raras (IIER). Sus principales contribuciones científicas se han realizado en el campo de la señalización inflamatoria, describiendo nuevos reguladores así como identificando dianas de actuación de diferentes moléculas derivadas de productos naturales.

La inflamación es una respuesta fisiológica del organismo frente a un daño. Sin embargo, si la inflamación persiste, puede dar lugar al desarrollo de numerosas patologías. Los macrófagos juegan un papel esencial en la inflamación, respondiendo al entorno con la adquisición de diferentes fenotipos, denominados M1 y M2. El desequilibrio entre estos macrófagos M1 y M2 se ha descrito en varias patologías, constituyendo una diana clave para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas.

Summary

Inflammation is a physiological response of the organism to an injury. However, prolonged inflammation can lead to the development of several pathologies. Macrophages play an essential role in inflammation, responding to microenvironment with the acquisition of distinct functional phenotypes, mainly named M1 and M2. Imbalance of M1/M2 macrophages has been described in several pathological conditions, being a target for new therapeutic strategies.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

Ya desde la antigüedad, las primeras referencias bibliográficas aparecieron hace aproximadamente unos 3000 años a. de C. en papiros egipcios, el término inflamación se ha asociado habitualmente a enfermedad. Nada más lejos de la realidad. La inflamación, del latín *inflammatio* (*encender*, hacer fuego), es una respuesta protectora del organismo frente a una agresión, cuyo objetivo final es eliminar la causa de la lesión celular y reparar el daño causado (1). Así pues, la inflamación es inicialmente un proceso beneficioso con sistemas de control muy estrictos que permiten su resolución una vez cumplida su función. De ahí que se haya conservado a lo largo de la evolución como un sistema de alarma y defensa. Sin embargo, en ocasiones estos mecanismos de control fallan, perpetuando la respuesta inflamatoria a lo largo del tiempo o provocando una reacción exagerada, lo que la convierte en un proceso dañino presente en muchas de las enfermedades humanas. De hecho, casi dos tercios de las patologías humanas presentan alteraciones en la respuesta inflamatoria, incluyendo enfermedades como el Alzheimer, que tradicionalmente se consideraba una enfermedad degenerativa, o el cáncer, en la que el componente inflamatorio está adquiriendo cada vez mayor relevancia. **Calor, rubor, tumor y dolor** han sido tradicionalmente considerados los cuatro signos cardinales de la inflamación, desde que el médico romano Celsus los describiera por primera vez en el s. I después de Cristo (1). Estos puntos cardinales de la inflamación reflejan los principales eventos que tienen lugar durante la respuesta inflamatoria: el **calor y rubor** se deben a la vasodilatación y el aumento de la permeabilidad de los vasos sanguíneos que facilita el flujo de células y plasma desde los capilares al tejido. El **tumor** se produce por el edema e infiltración de células fagocíticas en el tejido, fundamentalmente neutrófilos y macrófagos, que constituyen la primera línea

de defensa del sistema inmune. Finalmente, el **dolor** es producido por la actuación de determinados mediadores sobre las terminaciones nerviosas del dolor.

Uno de los principales sistemas de defensa del organismo son los macrófagos, que desempeñan un papel clave no solo en el reconocimiento y eliminación de patógenos sino también en el mantenimiento de la homeostasis tisular. Los macrófagos proceden de monocitos circulantes que una vez que llegan a los tejidos, maduran y completan su diferenciación a macrófagos. Estos macrófagos presentan una alta heterogeneidad y dependiendo del microambiente que les rodee, pueden adoptar distintos estados de activación, que difieren en la expresión de receptores, funciones y producción de citoquinas y quimioquinas, lo que les permite adaptarse al medio adecuadamente. Simplificando la gran heterogeneidad de estas células, podemos distinguir dos tipos de macrófagos, identificados como M1 o macrófagos clásicos y M2 o macrófagos alternativos (2,3). Los macrófagos M1 se originan durante la respuesta inflamatoria tras la estimulación con IFN- γ , TNF- α o componentes microbianos como el lipopolisacárido (LPS) y están caracterizados por la producción de citoquinas y mediadores pro-inflamatorios. Este fenotipo se caracteriza por una alta actividad antiviral, antibacteriana y supresora de tumores (2,3). Por el contrario, los macrófagos M2 se activan en ambientes ricos en mediadores anti-inflamatorios (por ejemplo IL-10, IL-4, IL-13), promoviendo la remodelación de la matriz y la reparación del daño, y suprimiendo la respuesta inmune (4,5). Si bien ambos fenotipos son esenciales para el mantenimiento de la homeostasis del organismo, ¿Cuáles son las consecuencias de un inadecuado balance entre macrófagos M1/M2? La respuesta la encontramos en patologías como el cáncer, la obesidad, o en diversas enfermedades inflamatorias crónicas y autoinmunes como la enfermedad de Crohn, la artritis reumatoide o la esclerosis múltiple (6,7). Así, se ha descrito un cambio de polarización M2 a M1 durante el progreso de la obesidad, asociándose también una mayor presencia de macrófagos M1 con la producción de citoquinas pro-inflamatorias durante la enfermedad de Crohn y la artritis reumatoide, o

la pérdida axonal en la esclerosis múltiple (6,7). Por el contrario, se ha establecido una relación directa entre el peor pronóstico de los tumores y su grado de infiltración con los denominados macrófagos asociados a tumores, células con un fenotipo similar a los macrófagos M2.

A la vista de estos datos, cabe preguntarse si la reprogramación de los macrófagos podría constituir una estrategia terapéutica eficaz para el tratamiento de numerosas enfermedades. Si bien es cierto que en los últimos años se están llevando a cabo numerosas aproximaciones experimentales con el objetivo de reprogramar estas células, sobre todo en el contexto de los tumores; no podemos olvidar que en el organismo no todo es blanco o negro y a menudo, ambos fenotipos coexisten. Por ello, resulta imprescindible ahondar en el conocimiento de las señales que controlan la plasticidad y heterogeneidad de estos macrófagos, lo que nos permitirá modular su función de acuerdo a las patologías a tratar.

Referencias

1. Medzhitov R. Inflammation 2010: new adventures of an old flame. Cell. (2010) 140:771-776.
2. Sica A, Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. J Clin Invest. (2012) 122:787-795.
3. Gordon, S. and Taylor, P. R. Monocyte and macrophage heterogeneity. Nature Rev. Immunol. (2005) 5:953-964.
4. Mantovani, A., Sozzani, S., Locati, M., Allavena, P., and Sica, A. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. Trends Immunol. (2002) 23:549-555.
5. Mantovani A, Locati M. Tumor-associated macrophages as a paradigm of macrophage plasticity, diversity, and polarization: lessons and open questions. Arterioscler Thromb Vasc Biol. (2013) 33:1478-1483.
6. Murray P.J. and Wynn T.A. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. Nature Rev. Immunol. (2011) 11:723-737
7. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. J Clin Invest (2007) 117: 175-184.

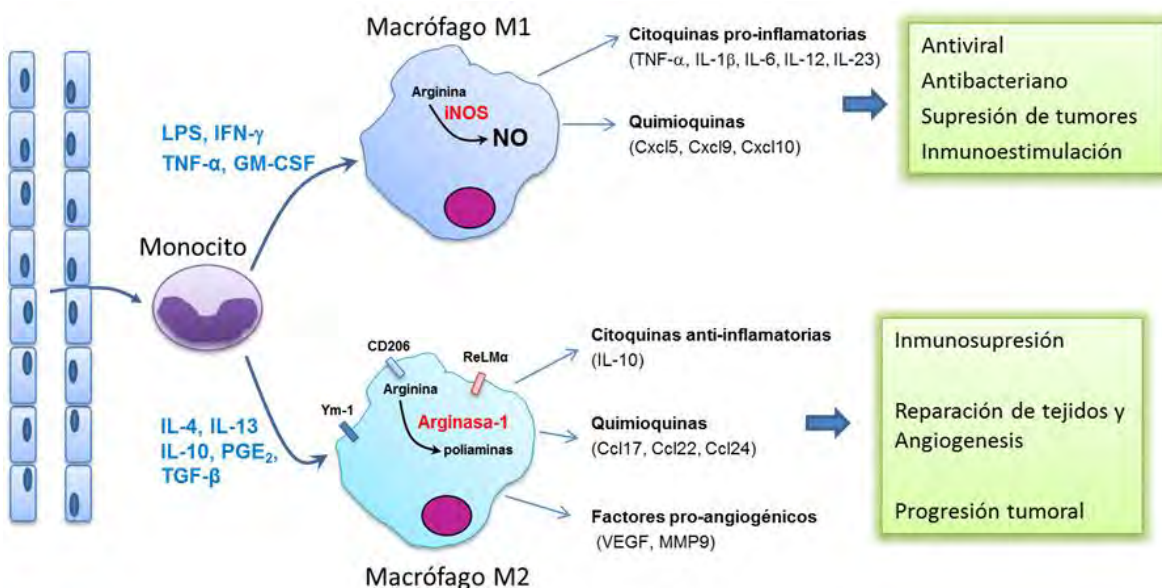


Figura. Diferentes estados de activación de los macrófagos.

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



La leptina, una hormona multifuncional que regula el balance energético

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2014.01.2

Vicente Barrios

Servicio de Endocrinología, Hospital Infantil Universitario Niño Jesús.
Centro de Investigación Biomédica en Red de Fisiopatología, Obesidad y Nutrición.

Biografía Resumen

Vicente Barrios es licenciado en Biología por la Universidad Autónoma de Madrid. Realizó su tesis doctoral en el Departamento de Bioquímica de la Universidad de Alcalá, estudiando el efecto de diferentes adicciones sobre sistemas de neurotransmisores.

Como becario del Fondo de Investigación Sanitaria, analizó la implicación de los factores de crecimiento similares a la insulina (IGFs) en la fisiología y fisiopatología del crecimiento.

En 1995, pasó a ser Titulado Superior Adjunto en el Hospital Infantil Universitario Niño Jesús (HIUNJ) donde estableció el mecanismo de algunos efectos neuroprotectores de los IGFs en enfermedades degenerativas. En la actualidad, y desde su incorporación al CIBER como investigador en 2006, investiga sobre la regulación hormonal central de la homeostasis energética y la fisiopatología de la resistencia insulínica y la obesidad. Compagina su trabajo con los cargos de patrono en dos fundaciones de docencia e investigación, así como con la presidencia de la Comisión de Investigación Clínica del HIUNJ.

La leptina es una hormona sintetizada mayoritariamente en el tejido adiposo que informa al hipotálamo sobre los depósitos grasos, regulando el balance energético. Su carácter versátil se manifiesta en la modulación de numerosas funciones en distintos órganos, estando así sus acciones estrechamente relacionadas con su papel regulador de la homeostasis energética.

Summary

Leptin is a hormone synthesized mainly in the adipose tissue, which informs to the hypothalamus about fat depots, thus regulating energy balance. Its versatile nature is demonstrated by the modulation of several functions in various organs, being their actions closely related to its regulatory role of energy homeostasis.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

La concesión del Premio Fronteras del Conocimiento 2012 de la Fundación BBVA a Douglas Coleman y Jeffrey Friedman por el descubrimiento del gen de la leptina, hormona involucrada en la regulación central de la ingesta, supone un reconocimiento a ambos investigadores por este hallazgo crucial para la comprensión de los mecanismos reguladores del balance energético en el organismo, así como de la fisiopatología de la obesidad.

El incremento de la prevalencia de la obesidad en los países desarrollados ha incentivado la investigación sobre el papel del tejido adiposo en el desarrollo de trastornos adicionales inducidos por el aumento de peso. El tejido adiposo es un órgano endocrino que produce numerosas hormonas, llamadas adipoquinas, entre las que destaca la leptina. El descubrimiento en 1994 del gen que codifica esta hormona (1) abrió una nueva línea de conocimiento sobre el papel de los factores sintetizados por el adipocito en la regulación de la homeostasis energética y el metabolismo.

La ingesta y el control del peso corporal dependen de la interacción entre el sistema nervioso central y las señales procedentes de la periferia. La leptina, sintetizada preferentemente por el tejido adiposo, proporciona información sobre la cantidad de este tejido al hipotálamo, centro modulador de la ingesta y del balance energético (2), donde se une a sus receptores principalmente en el núcleo arcuato, una de las áreas hipotalámicas más importantes que regula esta función integradora, para inhibir la síntesis de los péptidos estimuladores del apetito denominados proteína relacionada con Agouti (AGRP) y el neuropéptido Y (NPY) y estimular la de proopiomelanocortina (POMC) y el transcrito relacionado con anfetaminas y cocaína (CART), que inhiben la ingesta (Figura, panel A). Por lo tanto, esta hormona tiene un efecto inhibitorio sobre la ingesta.

La activación del receptor de leptina (R-LEP) estimula las vías de señalización intracelulares que median sus acciones, siendo muchas de las dianas intracelulares compartidas con otras hormonas, como la insulina (3). Esta hormona tiene un efecto anorexigénico similar al de la leptina, inhibiendo la síntesis de péptidos orexigénicos y

estimulando la de los inhibidores del apetito. Asimismo, la leptina mejora la homeostasis de la glucosa incrementando la sensibilidad insulínica en el hipotálamo. Por lo tanto, el cruzamiento de la señalización desempeña una función relevante en la fisiología y además, los cambios en la activación de ambas vías, no solamente en el sistema nervioso, sino en la periferia, están involucrados en el desarrollo de un perfil inflamatorio desfavorable presente en diferentes enfermedades (4). Uno de los casos más frecuente de alteraciones en la señalización es la resistencia a la acción de ambas hormonas, frecuentemente por un mecanismo de inhibición por el producto final, el supresor de señalización de citoquinas 3 (SOCS3) en el caso de la leptina y la fosfotirosina fosfatasa 1B (PTP1B) en la insulina, presentando un mecanismo de inhibición cruzada. La resistencia central provoca un aumento de la síntesis de péptidos estimuladores del apetito y la inhibición de los anorexigénicos, con un balance energético positivo que se traduce en una mayor ingesta y el aumento del peso corporal (Figura, panel B).

Aunque la leptina circulante procede principalmente del adipocito, numerosos órganos periféricos y el sistema nervioso central pueden producir pequeñas cantidades, teniendo además receptores para esta adipocina. Así, desde su descubrimiento, se ha descrito su implicación en diferentes procesos y órganos, en muchos casos relacionados con su carácter de adipocina y sus efectos sobre la homeostasis energética. En el sistema nervioso central, no solamente el hipotálamo regula la homeostasis energética, sino que otras áreas cerebrales están involucradas en esta función reguladora. Así, la corteza cerebral y el hipocampo presentan receptores para esta hormona, que interacciona con diferentes neurotransmisores para modular funciones estrechamente conectadas con la regulación de la ingesta (5). También se han descrito acciones neuroprotectoras de la leptina en diferentes áreas cerebrales mediadas no solamente por la activación de JAK2 y STAT3, sino por dianas de la vía clásica de la insulina, como Akt, lo que viene a confirmar nuevamente la estrecha relación entre ambas hormonas. El carácter versátil de la leptina se manifiesta por la

multiplicidad de sus acciones en tejidos periféricos (6). En el sistema circulatorio, la leptina aumenta la actividad del sistema nervioso simpático, con implicaciones en la función endotelial y en la homeostasis de la presión sanguínea. Con respecto a la función respiratoria se han referido sus efectos sobre el desarrollo pulmonar, sugiriéndose un papel en el control respiratorio. Así, en obesos hay resistencia a la leptina relacionada con la apnea obstructiva. También está involucrada en la regulación del crecimiento lineal, función ligada con la homeostasis energética. De hecho, la leptina incrementa el contenido mineral óseo y tiene efectos mitogénicos sobre los condrocitos de la placa de crecimiento epifisaria, estimulando al mismo tiempo la síntesis y secreción de la hormona de crecimiento en el hipotálamo. Entre otras de sus múltiples acciones, podemos enumerar sus efectos sobre el tejido adiposo (7), aparato reproductor, riñón y su papel en la regulación de la respuesta inmune.

En resumen, la investigación sobre las vías de señalización activadas por la leptina y su interacción con otras hormonas reguladoras del metabolismo y la homeostasis energética representa un reto fascinante que ayudará a desvelar nuevos conocimientos sobre la fisiología de esta hormona y a entender los mecanismos fisiopatológicos involucrados.

Referencias

- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994, 372:425-432.
- Morton GJ. Hypothalamic leptin regulation of energy homeostasis and glucose metabolism. *J Physiol* 2007, 583:437-443.
- Burgos-Ramos E, Chowen JA, Arilla-Ferreiro E, Canelles S, Argente J, Barrios V. Chronic central leptin infusion modifies the response to acute central insulin injection by reducing the interaction of the insulin receptor with IRS2 and increasing its association with SOCS3. *J Neurochem* 2011, 117:175-185.
- Martos-Moreno GÁ, Kratzsch J, Körner A, Barrios V, Hawkins F, Kiess W, Argente J. Serum visfatin and vaspin levels in prepubertal children: effect of obesity and weight loss after behavior modifications on their secretion and relationship with glucose metabolism. *Int J Obes (Lond)* 2011, 35:1355-1362.
- Perianes-Cachero A, Burgos-Ramos E, Puebla-Jiménez L, Canelles S, Frago LM, Hervás-Aguilar A, de Frutos S, Toledo-Lobo MV, Mela V, Viveros MP, Argente J, Chowen JA, Arilla-Ferreiro E, Barrios V. Acute up-regulation of the rat brain somatostatin receptor-effector system by leptin is related to activation of insulin signaling and may counteract central leptin actions. *Neuroscience* 2013, 252:289-301.
- Mantzoros CS, Magkos F, Brinkoetter M, Sienkiewicz E, Dardeno TA, Kim SY, Hamnvik OP, Koniaris A. Leptin in human physiology and pathophysiology. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2011, 301:E567-E584.
- Burgos-Ramos E, Canelles S, Perianes-Cachero A, Arilla-Ferreiro E, Argente J, Barrios V. Adipose tissue promotes a serum cytokine profile related to lower insulin sensitivity after chronic central leptin infusion. *PLoS One* 2012, 7:e46893.

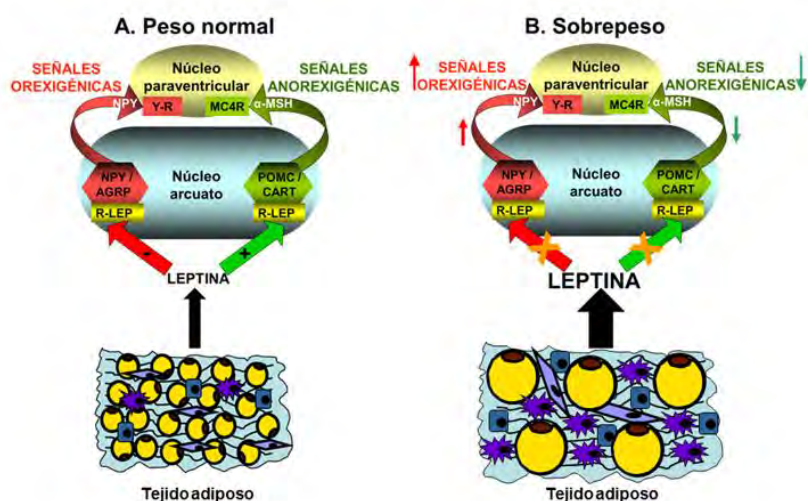


Figura. Regulación de la producción de los péptidos hipotálamicos moduladores del apetito por la leptina

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



El impacto de la nueva legislación en la investigación con animales

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2014.02.1

Belén Pintado

Unidad de Transgénesis, CNB - CBMSO

Biografía

Licenciada en Veterinaria en 1982, realicé mi tesis doctoral en el departamento de Fisiología de esta facultad especializándome en la obtención, cultivo y manipulación de embriones. En 1986 me incorporé al departamento de Reproducción animal y realicé una estancia en el Animal Reproduction Laboratory del USDA en Maryland, donde entré en contacto con la transgénesis, iniciando una línea de trabajo que me permitió especializarme en la generación de modelos animales con diferentes fines. Inicialmente con una perspectiva más productiva, y a partir de 1996 fundamentalmente enfocados hacia la caracterización de enfermedades. Durante los años en que he trabajado en este campo, la transgénesis ha pasado a ser una herramienta indispensable en la investigación biomédica. Ya al frente de la Unidad de transgénesis CNB-CBMSO, he tratado de compaginar mi actividad investigadora con la puesta en marcha de un servicio que facilite a diferentes grupos de investigación abordar proyectos de este tipo.

Resumen

La entrada en vigor de la Directiva Europea 63/2010 supone un cambio jurídico importante en la investigación con animales realizada en Europa. Parte de esos cambios ya habían sido incorporados en nuestro país. Otros requerirán una adaptación costosa y compleja en el marco económico actual, con un impacto difícilmente predecible.

Summary

The implementation of the European Directive 63/2010 implies an important legal change in Europe affecting research that involves the use of animals. Some of these changes had been implemented already in Spain. Others will require a costly and complex adaptation in a difficult economical scenario with an impact that is difficult to foresee.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA: http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

El año 2013 supone un punto de inflexión en la legislación europea sobre experimentación animal. Mientras que la antigua Directiva (86/609/CEE) podía entenderse como una legislación de mínimos, la Directiva 63/2010 en cambio, sienta unos estándares comunes que persiguen armonizar de forma real el funcionamiento de la experimentación con animales en toda Europa. El proceso de incorporación de esta Directiva a la legislación española culminará con la modificación de la ley 92/2007 en la que previsiblemente se incluyan aspectos puntuales que por el ordenamiento jurídico español, no pudieron incluirse en el Real Decreto 65/2013, tales como la modificación de las especies protegidas por la legislación, la inclusión de formas fetales en el tercer tercio de gestación o la modificación de la figura del silencio administrativo como equivalente a una aprobación tácita de un proyecto.

A diferencia de otros países de la Unión, parte de los cambios profundos que supone la Directiva del 2010 ya eran una realidad en España desde la entrada en vigor del RD 1201/2005. Por ejemplo, nuestra antigua legislación reconocía explícitamente el principio de las 3 "Rs", obligaba a la creación de comités éticos en los centros y requería una formación específica para poder desarrollar actividades como el cuidado, la realización de procedimientos, el diseño de experimentos o la supervisión del bienestar y la salud de los animales. También obligaba a la presencia de un responsable de bienestar en los centros de investigación y a la disponibilidad de un supervisor de salud animal.

Sin embargo, y a pesar de todo el camino ya recorrido, la nueva legislación supone un salto cualitativo muy importante que incorpora en nuestro funcionamiento conceptos nuevos. Por ejemplo, dejamos de hablar de procedimientos, sustituyendo este término por el de proyecto. Éste se define como el conjunto de actuaciones que se realizan sobre un animal. Este cambio busca el recopilar en un único documento todas las actuaciones experimentales para conseguir el objetivo, es decir obliga a una concepción más global de los experimentos.



En aras de la transparencia, además se requiere una explicación del mismo en forma de un resumen no técnico con acceso público. Otra novedad importante es que se incluye la necesidad de hacer una evaluación retrospectiva del efecto a nivel de bienestar animal que han tenido las actuaciones previstas en un proyecto. Es decir, no sólo se hace una predicción de lo que puede suceder a nivel de bienestar animal, sino que esta predicción se confirma *a posteriori* en base a las observaciones realizadas durante el proyecto en un estudio retrospectivo.

En el nuevo marco legal se identifica un responsable del proyecto, el investigador que lo propone, y un órgano de supervisión de bienestar animal, el OEBA, que vela por que los proyectos se desarrollen de acuerdo a las condiciones aprobadas. La responsabilidad de autorizar los proyectos ya no es potestad de los comités éticos de las instituciones, ahora recae en las autoridades competentes, las comunidades autónomas en el caso de España. Éstas autorizan los proyectos basándose en un informe del órgano de bienestar animal del centro y una evaluación ética realizada de forma totalmente independiente por una nueva figura, los llamados “órganos habilitados”, que deben garantizar la limpieza del proceso de evaluación, tanto de la solicitud, como de la evaluación retrospectiva mencionada anteriormente. Con el fin de no entorpecer el desarrollo de los proyectos, la legislación exige una respuesta por la autoridad competente en un plazo de 40 días desde la presentación de la documentación, salvo proyectos de gran complejidad en los que se admite una prórroga.

Por último es de destacar un cambio cualitativo importante en lo referente a la formación. No sólo se obliga a que todo el personal que realiza funciones relacionadas con la utilización de animales tenga una formación adecuada, además es necesario actualizarla de forma constante. En resumen, la nueva Directiva obliga a una formación continuada y específica, es decir dirigida a las especies animales que se van a utilizar.

A nadie se le escapa que todas estas modificaciones suponen una mayor carga laboral y administrativa que no

podía haber llegado en peor momento, con una recesión económica que está afectando con especial dureza a la financiación en investigación. Los recursos disponibles difícilmente podrán aplicarse a la implementación de la legislación, lo que supondrá en bastantes casos el tener que abandonar estudios *in vivo* o dejarlos a unos niveles mínimos, con ellos, se limitará claramente nuestra competitividad en comparación con otros países con medidas legales más laxas. Hará falta tiempo para saber si los potenciales beneficios de hacer una investigación de mejor calidad serán capaces de compensar la mayor inversión de recursos económicos y humanos que esta legislación exige o si, por el contrario, supondrá una deslocalización de la investigación con animales fuera de la Unión Europea.

Referencias

Algunos *links* de interés donde se puede consultar la legislación, europea y nacional, así como la interpretación de la misma:

1. http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/legislation_en.htm
2. <http://www.secal.es/>
3. <http://www.cnb.csic.es/~transimp/leyes.html>



Figura. Manual de Protección de los animales utilizados para fines científicos

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



El gen del X frágil y sus patologías

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2014.03.1

Elizabeth Pintado

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla y Hospital Universitario Virgen Macarena

Biografía

Elizabeth Pintado es catedrática de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla y Jefe de Sección de Biología Molecular del Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla. Es licenciada en Medicina y Cirugía (1975) y Doctora en Medicina (1980) con Premio extraordinario por la Universidad de Sevilla. Realizó una estancia predoctoral en el Collège de France (París) y fue becaria postdoctoral del Dpto. de Bioquímica y Biofísica de la Universidad de Pensilvania (Filadelfia, USA) (1980-1982). Durante ese tiempo y posteriormente en el Dpto. de Bioquímica de la Facultad de Medicina de Sevilla sus trabajos se han centrado en el metabolismo y la señalización celular. Durante el año sabático (1991-1992) que realizó en el Dpto. de Genética de la Universidad de Stanford (California, USA) financiado por el Fondo de Investigación Sanitaria de la Seguridad Social se formó en las técnicas de biología molecular aplicadas al diagnóstico de enfermedades hereditarias y comenzó el estudio del síndrome X frágil. En su labor clínica realiza el diagnóstico molecular y consejo genético de enfermedades hereditarias. Su investigación se centra en el papel de la metilación en la expresión de genes como el *FMR1* responsable del síndrome X frágil y el estudio del sesgo en la inactivación del cromosoma X en relación con el fenotipo en mujeres.

Resumen

El síndrome X frágil es la primera causa de discapacidad intelectual hereditaria. El descubrimiento del gen responsable, *FMR1*, desveló las “mutaciones dinámicas” que cambian al pasar de una generación a otra. Nuevos síndromes como la insuficiencia ovárica precoz (*FXPOI*) y el síndrome de tremor-ataxia (*FXTAS*) se asocian a las premutaciones consideradas previamente asintomáticas.

Summary

Fragile X syndrome is the first cause of inherited mental retardation. The discovery of the *FMR1* gene brought to light the “dynamic mutations” that change with generations. New syndromes as the ovarian insufficiency (*FXPOI*) and the tremor ataxia (*FXTAS*) have been associated to the premutation previously considered asymptomatic.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA: http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

El síndrome X frágil (FXS) es la primera causa de retraso mental hereditario y debe su nombre a la fragilidad que aparece en el brazo largo del cromosoma X (Xq27.3) en los cariotipos de pacientes cuando las células se cultivan en un medio deficiente en ácido fólico. El descubrimiento del gen *FMR1* (“Fragile Mental Retardation 1”) como responsable del síndrome en 1991 desveló un tipo de mutación hasta entonces desconocida que ha permitido explicar fenómenos tan enigmáticos como la anticipación genética observada por pediatras, neurólogos y psiquiatras en varias patologías de origen genético (1).

La mutación observada en el FXS y después encontrada en otras patologías neurológicas se describe como “mutaciones dinámicas” y consiste en genes que crecen de tamaño en las sucesivas generaciones. La zona que se expande se corresponde con tripletes repetidos, de número variable en la población normal, que a partir de un umbral (característico para cada enfermedad) se hacen inestables pudiendo aumentar cuando se transmite el gen a la descendencia. Este tipo de mutación se encuentra en la distrofia muscular espino-bulbar, las ataxias dominantes, la corea de Huntington, la distrofia miotónica, la ataxia de Friedrich entre otras, constituyendo un grupo de patologías con gran impacto social y objeto de intenso estudio (2).

En el conjunto de enfermedades por expansión de tripletes existen dos grupos claramente diferenciados (en la actualidad la división se ha hecho más compleja). Las de tipo I (por ejemplo la corea de Huntington) en las que las repeticiones (generalmente CAG) están en zonas codificantes, presentan expansiones pequeñas y el paso de alelo normal a patológico es bastante drástico. En ellas la fisiopatología se produce por “ganancia de función” por acción tóxica de la proteína anómala. En cambio, en las de tipo II (por ejemplo, el síndrome X frágil) en las que las repeticiones están en regiones no codificantes existe una zona amplia entre los alelos normales y los patológicos, lo que se conoce como premutación. La patología se debe a “pérdida de función” por falta de expresión de la proteína.

El gen *FMR1* se expresa en numerosos tejidos y más abundantemente en cerebro y testículos. La proteína FMRP presenta zonas muy conservadas en la escala filogenética con dominios de secuencia homóloga a los dominios KH encontrados en las proteínas

hnRNP y en otras proteínas que unen RNA. Los alelos del gen *FMR1* se dividen según el número de repeticiones CGG que se encuentran en la región 5'-UTR del primer exón en alelos normales de 6 a 44 tripletes, alelos intermedios de 45 a 54 tripletes, alelos premutados de 55 a 200 tripletes y alelos mutados por encima de 200 (Fig.1). Los alelos con expansiones por encima de 200 tripletes, por mecanismos todavía no bien conocidos, se acompañan de metilación de los propios CGG y del promotor del gen lo que se conoce como mutación completa. La metilación de la isla CpG del promotor del gen *FMR1* impide su transcripción y la ausencia de FMRP es responsable del fenotipo X frágil. Estudios "in vitro" que inducen la metilación del promotor del *FMR1* producen de forma similar un silenciamiento del gen (3). El síndrome X frágil tiene una herencia ligada al sexo dominante con penetrancia incompleta. La afectación en las mujeres depende fundamentalmente del sesgo en la inactivación del cromosoma X extra. La proteína FMRP inhibe la síntesis de proteínas sobre todo en las sinapsis y análisis histológicos en cerebro de necropsias de pacientes X frágiles muestran una arborización anómala de las dendritas. En presencia de mutación completa no se produce la represión fisiológica de la traducción de diversas proteínas, como el receptor de glutamato (mGluR5) produciendo una exacerbación de esta vía. Los portadores de alelos premutados (56 a 200 tripletes) se consideraban asintomáticos, sin embargo, en la actualidad está perfectamente establecido que la premutación se asocia a varias patologías como es la insuficiencia ovárica prematura en mujeres (FXPOI) y el síndrome de tremor ataxia asociado al X frágil (FXTAS) en mujeres y varones (4). De forma inesperada se ha encontrado que los alelos premutados e intermedios expresan niveles superiores a los normales de RNA mensajero del *FMR1* con niveles normales o ligeramente disminuidos de FMRP por lo que la patología observada en los portadores de premutación se debería a una

"ganancia de función" por efecto tóxico del RNA expandido (5). En la actualidad los estudios tratan de aclarar los mecanismos genéticos y epigenéticos que determinarán la aparición de los diferentes fenotipos (6). El diagnóstico de certeza de enfermos y portadores sanos permite el consejo genético y la prevención de la enfermedad. El mejor conocimiento de los mecanismos moleculares subyacentes a estas patologías está permitiendo la obtención de fármacos con perspectivas esperanzadoras en la mejora de estos pacientes (7).

Referencias

- 1.- Fu YH, Kuhl DP, Pizzuti A, Pieretti M, Sutcliffe JS, Richards S, Verkerk AJ, Holden JJ, Fenwick RG Jr, Warren ST, et al. Variation of the CGG repeat at the fragile X site results in genetic instability: resolution of the Sherman paradox. *Cell*, 67:1047-1058, 1991.
- 2.-Warren ST .The expanding world of trinucleotide repeats. *Science*, 271:1374-1375, 1996.
- 3.-Hmadcha A, Bedoya FJ, Sobrino F, Pintado E. Methylation-dependent gene silencing induced by interleukin 1beta via nitric oxide production. *J Exp Med*, 190:1595-1604, 1999.
- 4.- Hagerman PJ, Hagerman RJ. Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome—an older face of the fragile X gene. *Nature Clin Pract Neurol*, 3: 107-112, 2007.
- 5.-Tassone F, Hagerman RJ, Taylor AK, Gane LW, Godfrey TE, Hagerman PJ. Elevated levels of FMR1 mRNA in carrier males: a new mechanism of involvement in the fragile-X syndrome. *Am J Hum Genet*, 66:6-15, 2000.
- 6.-Conde V, Palomar FJ, Lama MJ, Martínez R, Carrillo F, Pintado E, Mir P. Abnormal GABA-mediated and cerebellar inhibition in women with the fragile X premutation. *J Neurophysiology*, 109: 1315-1322, 2013
- 7.- Bagni C, Tassone F, Neri G, Hagerman RJ. Fragile X syndrome: causes, diagnosis, mechanisms, and therapeutics. *J Clin Invest*, 122: 4314-4322, 2012.

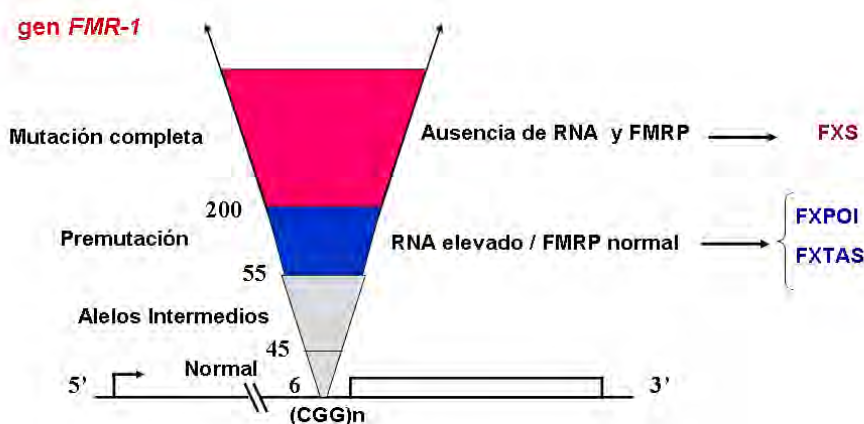


Figura 1. Diagrama de los diferentes estados del gen *FMR1*

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



¿Por qué en China no funcionan bien los implantes cocleares?

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2014.03.2

Miguel A. Merchán

Dpto. de Biología Celular y Patología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Salamanca - Instituto de Neurociencias de Castilla y León

Biografía

Doctor en Medicina con premio extraordinario fin de carrera en la Universidad Complutense (1978). Especialista en Anatomía Patológica (vía MIR en 1981). Catedrático de Histología de la Facultad de Medicina de la USAL 1986 - 2013. Múltiples publicaciones científicas en revistas indexadas, 6 libros y más de veinte artículos en revistas de divulgación o prensa. En gestión institucional, Vicerrector de Planificación Académica de la USAL (1987) (Desarrollo de la estructura académica y plantilla de profesorado LRU). Promotor y director del Instituto de Neurociencias de Castilla y León - INCYL (1998 - 2012). Creación de la Unidad en Neuropatología y biobancos. Coordinador de la Red CIEN (Centro de Investigación de enfermedades Neurológicas) año 2004 - Instituto de Salud Carlos III. Miembro del comité gestor del centro en Red de Medicina Regenerativa y Terapia Celular de Castilla Y León, Medalla de oro de la Real Academia de Medicina de Valladolid, Doctor Honoris causa por las universidades de Montevideo y Autónoma de Ecuador, etc. 5 tramos de investigación (sexenios) y 6 de docencia. Área de especialización: Neurociencia Auditiva.

Resumen

Cuando el receptor auditivo es destruido por un agente externo o interno o se nace con un oído defectuoso decimos que el paciente tiene hipoacusia neurosensorial. Cuando la sordera es congénita o se adquiere en las primeras etapas de la vida se produce una incapacidad para desarrollar el lenguaje, lo que se conoce como sordomudez. Esta patología se puede erradicar mediante el diagnóstico perinatal (en recién nacidos) de la sordera y la subsiguiente colocación en el oído interno de un implante coclear (IC).

Summary

When the auditory receptor is destroyed by an external or internal agent or born with a defective heard we say that the patient has sensorineural hearing loss. When deafness is congenital or acquired in early life a failure occurs to develop language, which is known as deaf-mutism. This disease can be eradicated by perinatal diagnosis (in newborns) of deafness and subsequent placement in the inner ear of a cochlear implant (CI).

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA: http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

La reciente concesión del premio Lasker a los tres científicos más relevantes en el campo de las prótesis auditivas (Graeme M. Clark, Ingeborg Hochmair y Blake S. Wilson) representa el reconocimiento no solo de una espléndida trayectoria profesional, sino de la relevancia de los implantes cocleares para el bienestar de los seres humanos.

Cuando el receptor auditivo es destruido por un agente externo o interno o se nace con un oído defectuoso decimos que el paciente tiene hipoacusia neurosensorial. Cuando la sordera es congénita o se adquiere en las primeras etapas de la vida se produce una incapacidad para desarrollar el lenguaje, lo que se conoce como sordomudez. Esta patología se puede erradicar mediante el diagnóstico perinatal (en recién nacidos) de la sordera y la subsiguiente colocación en el oído interno de un implante coclear (IC). Un IC es básicamente un filamento multielectrodo que insertado en el interior del caracol envía un código basado en impulsos eléctricos, que son generados por un transductor que transforma los sonidos y se conoce como procesador de voz. Debemos recordar en este punto, antes de continuar, que analizados los intentos de suplir otros sentidos, los implantes cocleares son la única prótesis efectiva para volver a conectar nuestro cerebro con el mundo exterior.

Miles de pacientes desarrollan una vida normal gracias a estos dispositivos pero además desde el punto de vista científico, la reconexión del cerebro representa un campo de extraordinario interés para la Neurociencia. Según nuestro diccionario de la RAE oír significa "Percibir con el oído los sonidos" y escuchar "Prestar atención a lo que se oye". La diferencia depende de los actores en juego, porque mientras que en el primer caso funciona el oído sobre todo, en el segundo el protagonista es la corteza cerebral. Diversos autores han estado interesados en conocer en qué modo la corteza cerebral auditiva trabaja desde el punto de vista de su capacidad de adaptación (neuroplasticidad). En otros laboratorios, y en el nuestro también, hemos comprobado en modelos animales que el córtex auditivo es capaz de regular la actividad del oído modificando la expresión de sus genes, la síntesis de

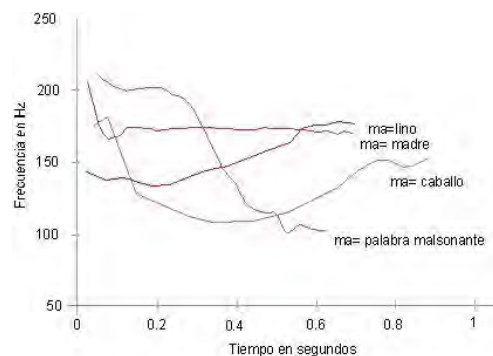
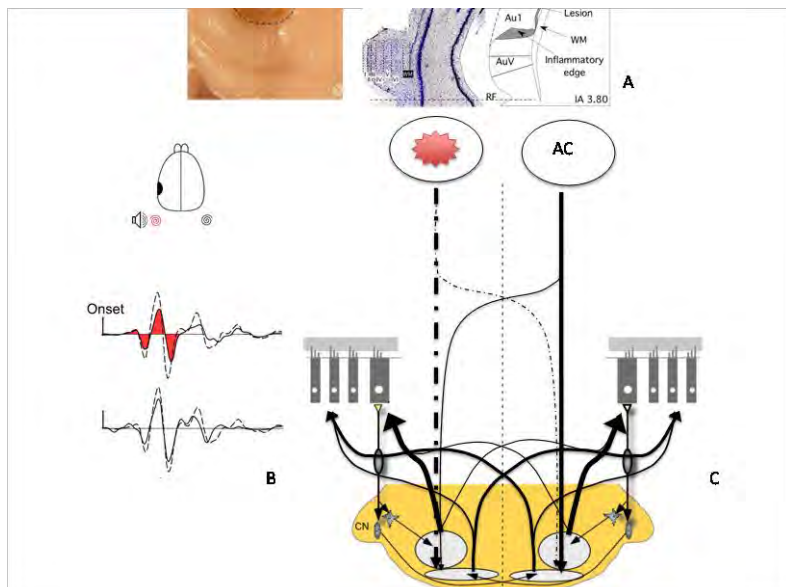
neurotransmisores, el umbral de audición, el procesado de las frecuencias y la amplificación del sonido (5) . Esto, para que se entienda, quiere decir que la cóclea oye lo que el cerebro le ordena o, mejor aún, lo que necesita que oiga para procesar la escena auditiva. Por otra parte en nuestro laboratorio hemos estudiado las ventanas temporales en las que el cerebro auditivo adulto es capaz de adaptarse (repararse) tras eliminar un trozo de la corteza cerebral. De este modo hemos comprobado que el sistema nervioso central (SNC) mantiene activos genes y funciones de reorganización relacionados con la reparación prácticamente a lo largo de toda la vida (1; 2; 3; 4). En resumen, para el tema que nos ocupa concluimos de forma general que la corteza auditiva controla la respuesta del receptor y mantiene y dirige la reorganización plástica del cerebro no solo en el desarrollo sino a lo largo de toda la vida.

Los implantes cocleares envían señales eléctricas que activan el nervio auditivo, (señal hacia arriba - hacia la corteza), pero no reciben las órdenes necesarias para establecer una retroalimentación (arriba/ abajo) que adapte la señal de entrada como ocurre en la estimulación natural por sonido con el oído intacto. No obstante, como el sistema nervioso dispone de una prodigiosa capacidad de adaptación cuando se coloca un implante, el cerebro se reorganiza y tiene que aprender a extraer la información *de novo* en ausencia del mecanismo de retroalimentación cortical. El resultado es que el sistema nervioso se auto-ajusta para comprender las palabras en el escenario de un nuevo paradigma de estimulación. A pesar de la eficiencia de las prótesis, existe en los pacientes una capacidad menor que en condiciones normales de audición para discriminar con precisión un lenguaje complejo como es la música. Por otra parte millones de habitantes del planeta hablan con música (lenguajes tonales), por lo que, como los melómanos implantados, son los usuarios menos satisfechos del uso de estas prótesis. Este efecto adverso del lenguaje tonal en la adaptación de los pacientes con IC, se ha demostrado mediante análisis psicoacústicos de pacientes que hablan diversas lenguas orientales pero ha sido más estudiado en los hablantes de chino mandarín (6)(ver la gráfica de los cambios tonales para una palabra

monosílaba como es "ma" en chino). Nuestra propuesta para el futuro en el campo de las prótesis auditivas, de enorme interés social, económico y científico como queda dicho, es sentar las bases para generar nuevos prototipos que desarrollen no ya códigos más finos (estrategia actual) sino códigos adaptados al procesamiento cortical. Para ello será necesario profundizar en las bases de la retroalimentación central sobre el receptor y la plasticidad del sistema nervioso y desarrollar una nueva tecnología de registro transcraneal y control de los procesadores de voz. Solo de este modo en el futuro los pacientes implantados podrán entender el chino mandarín y también disfrutar de una sinfonía de Mozart.

Referencias

1. Clarkson, C., Herrero-Turrión, M. J., & Merchán, M. a. (2012). Cortical Auditory Deafferentation Induces Long-Term Plasticity in the Inferior Colliculus of Adult Rats: Microarray and qPCR Analysis. *Frontiers in Neural Circuits*, 6(November), 86. doi:10.3389/fncir.2012.00086
2. Clarkson, C., Juiz, J. M., & Merchán, M. a. (2010a). Long-term regulation in calretinin staining in the rat inferior colliculus after unilateral auditory cortex ablation. *The Journal of Comparative Neurology*, 518(20), 4261–76. doi:10.1002/cne.22453
3. Clarkson, C., Juiz, J. M., & Merchán, M. a. (2010b). Transient Down-Regulation of Sound-Induced c-Fos Protein Expression in the Inferior Colliculus after Ablation of the Auditory Cortex. *Frontiers in Neuroanatomy*, 4(October), 141. doi:10.3389/fnana.2010.00141
4. Clarkson, C., López, D. E., & Merchán, M. a. (2010). Long-term functional recovery in the rat auditory system after unilateral auditory cortex ablation. *Acta Oto-Laryngologica*, 130(3), 326–32. doi:10.1080/00016480903150536
5. Lamas, V., Alvarado, J. C., Carro, J., & Merchán, M. a. (2013). Long-term evolution of brainstem electrical evoked responses to sound after restricted ablation of the auditory cortex. *PloS One*, 8(9), e73585. doi:10.1371/journal.pone.0073585
6. Lee, K. Y., van Hasselt, C., Chiu, S., & Cheung, D. M. (2002). Cantonese tone perception ability of cochlear implant children in comparison with normal-hearing children. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 63(2), 137–147. doi:10.1016/S0165-5876(02)00005-8
7. Wei, C.-G., Cao, K., & Zeng, F.-G. (2004). Mandarin tone recognition in cochlear-implant subjects. *Hearing Research*, 197(1-2), 87–95. doi:10.1016/j.heares.2004.06.002



(Modificado de: Wei, C.-G., Cao, K., & Zeng, F.-G. (2004). Mandarin tone recognition in cochlear-implant subjects. *Hearing Research*, 197(1-2), 87-95.)

Figura 1, izquierda: en esta imagen se muestra una lesión en la corteza auditiva de una rata Wistar adulta (A). La lesión produce una caída de la actividad eléctrica de la cóclea y el nervio tras estimular con sonidos, que se muestra en B (Línea de puntos es control y línea continua rellena de rojo es un animal con lesión). En C se muestra un esquema de las conexiones descendentes de la corteza que se utilizó para interpretar los resultados. Figura 1, arriba: gráfica de los cambios tonales para la palabra monosílaba "ma" en chino".

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



Dinámica de la topología del DNA durante la replicación

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2014.04.1

Jorge Bernardo Schwartzman Blinder

Departamento de Biología Celular y Molecular del Centro de Investigaciones Biológicas (CIB - CSIC)

Biografía Resumen

Jorge Bernardo Schwartzman Blinder es Profesor de Investigación del CSIC en el Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) de Madrid. Doctor por la Universidad Politécnica de Madrid, trabajó en el Brookhaven National Laboratory (Upton) y en el Albert Einstein College of Medicine (New York) en replicación, daño y reparación del DNA. En el CIB ha investigado los mecanismos de formación de intercambios entre cromátidas hermanas y actualmente dirige el grupo de investigación "Biología molecular de los cromosomas". Desde 1986 estudia la topología del DNA e inhibidores de topoisomerasas en células procariontas y eucariotas.

En las células vivas las topoisomerasas regulan la topología del DNA durante procesos vitales como la transcripción, replicación, reparación y recombinación. Estas enzimas son el blanco de drogas empleadas como antibióticos y en la quimioterapia del cáncer. De ahí la importancia de conocer cómo actúan y por qué su inhibición induce citotoxicidad.

Summary

In all living cells topoisomerases regulate DNA topology during vital processes such as replication, transcription, repair and recombination. These enzymes have become key drug targets both for anti-bacterial and anti-cancer chemotherapy. This explains the importance to understand their mechanism of action and why their inhibition leads to cytotoxicity.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA: http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

Ya se han cumplido 60 años desde que Watson y Crick (1953a) propusieran su modelo de la estructura de la molécula que codifica la información genética, el ácido desoxiribonucleico (DNA). El modelo presenta complicaciones funcionales que no pasaron desapercibidas a los autores a juzgar por lo que escribieron entonces: "El DNA es una doble hélice y dado que las dos cadenas están entrelazadas, es obvio que deben desenrollarse para que se puedan separar. Aunque en este momento es difícil vislumbrar cómo puede ocurrir este proceso sin que las cadenas terminen enredadas, no creemos que este problema sea insuperable" (Watson and Crick, 1953b). Hoy sabemos que la separación de las dos cadenas del DNA durante la replicación y la transcripción genera superenrollamiento. En todas las células vivas unas enzimas evolutivamente muy conservadas llamadas topoisomerasas regulan este superenrollamiento y otras formas topológicas que puede adoptar el DNA *in vivo*, como son el encadenamiento y el anudamiento. De hecho, superenrollamiento, encadenamiento y anudamiento pueden considerarse complicaciones colaterales de la propia organización del DNA en una doble hélice. Resulta particularmente interesante conocer la dinámica de los cambios topológicos que tienen lugar durante la replicación del DNA. El avance de la horquilla replicativa genera superenrollamiento positivo con cruces levógiros por delante. En caso de no ser eliminado, la acumulación de este superenrollamiento positivo dificultaría el progreso de la horquilla y, eventualmente, podría incluso llegar a detenerla. Las células disponen de varios mecanismos para eliminar dicho superenrollamiento positivo. Algunas topoisomerasas están especializadas en su eliminación. Pero la procesividad de las helicasas replicativas supera con creces el de las topoisomerasas. Por ello, durante la replicación siempre hay una acumulación transitoria de superenrollamiento positivo inmediatamente por delante de la horquilla. La tensión torsional generada por este superenrollamiento fuerza la rotación de la horquilla con lo que dicha torsión se traslada a la región ya replicada. En ésta las cadenas nacientes son discontinuas por lo que no pueden albergar superenrollamiento. Pero la migración del superenrollamiento positivo



de la región no replicada a la ya replicada hace que las cromátidas hermanas se crucen de forma dextrógira para equilibrar la tensión torsional entre las regiones no replicada y ya replicada. Estos cruces entre cromátidas hermanas se denominan pre-encadenados ya que se convertirán en encadenados una vez que concluya la replicación. Curiosamente, se ha observado que en bacterias, la topoisomerasa IV (Topo IV) elimina cruces levógiros más eficientemente que los dextrógiros. La Topo IV es también llamada la desencadenasa bacteriana, ya que es la única topoisomerasa bacteriana de tipo II capaz de desencadenar las cromátidas hermanas *in vivo*. Pero la Topo IV elimina los cruces dextrógiros menos eficientemente que los levógiros. Este hecho se conoce como la "paradoja de la Topo IV".

Para estudiar la topología del DNA y el papel de las topoisomerasas en la resolución del superenrollamiento, encadenamiento y anudamiento, se emplea frecuentemente el análisis por electroforesis bidimensional en geles de agarosa de moléculas circulares que, por definición, constituyen dominios topológicamente cerrados (ver inserto en el ángulo superior derecho de la figura). Este método, se combina con el empleo de células portadoras de mutaciones que afectan a distintas topoisomerasas, la confirmación de la interpretación de los resultados por microscopía de fuerza atómica (ver figura) y simulaciones matemáticas por el método de Metropolis Monte Carlo. Todas estas aproximaciones permiten actualmente avanzar cada vez con mayor rigor en la comprensión mecánica de cómo actúan las topoisomerasas y cómo bloquean su acción sus inhibidores y los llamados venenos de topoisomerasas, de extendido uso en medicina como antibióticos y en la quimioterapia del cáncer.

Una vez completada la replicación cada una de las dos cromátidas hermanas se convierte en un dominio

topológico cerrado, aunque ambas permanecen encadenadas. Se ha comprobado que la progresiva adquisición de superenrollamiento, negativo en el caso de procariontes (Martínez-Robles et al., 2009) y positivo en la mitosis de los eucariotes (Baxter et al., 2011), favorece que la desencadenasa correspondiente (Topo IV en los primeros y topo 2 en los segundos) elimine selectivamente el encadenamiento sin afectar el superenrollamiento para permitir así la segregación de las moléculas hijas.

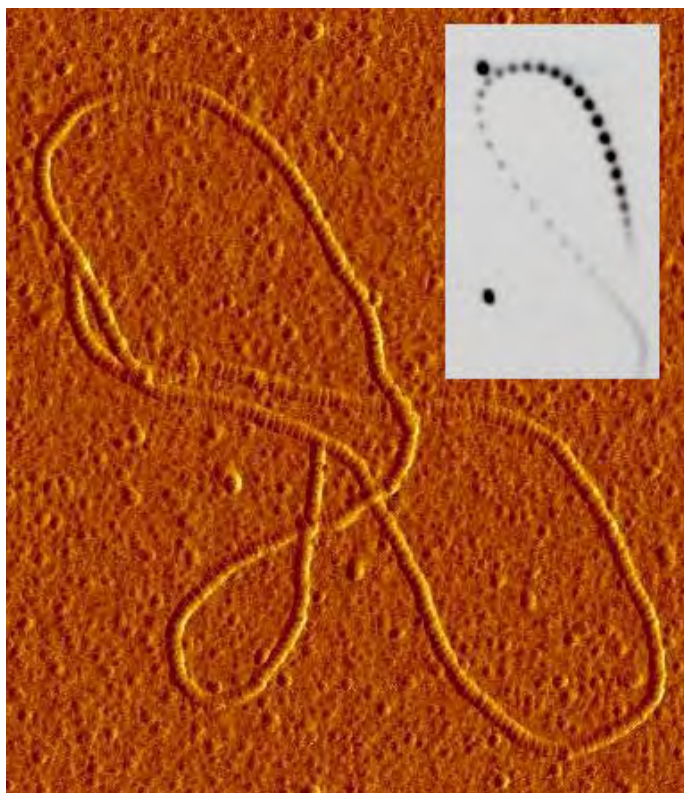
También se ha comprobado que durante la replicación la velocidad de avance de las horquillas influye decisivamente en la formación y eliminación de los pre-encadenados. Un eventual bloqueo de las horquillas por causas no naturales, como el provocado por lesiones en el DNA, da lugar a una disminución significativa del pre-encadenamiento. Esto a su vez provoca una disfunción de las desencadenasas que en lugar de desencadenar pueden realizar cruces que dan lugar a la formación de nudos intermoleculares o entre cromátidas hermanas. Es decir, en estas condiciones deletéreas, la misma topoisomerasa encargada de desencadenar las cromátidas hermanas se encarga de anudarlas (Lopez et al., 2012).

El abordaje multidisciplinar del estudio de la topología del DNA constituye un claro ejemplo de la importancia de la investigación básica en el desarrollo de tratamientos cada vez más efectivos en la lucha contra las infecciones y el cáncer.

Referencias

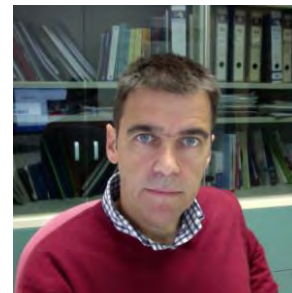
1. Baxter, J., Sen, N., Martínez, V.L., De Carandini, M.E., Schwartzman, J.B., Diffley, J.F., and Aragon, L. (2011). Positive supercoiling of mitotic DNA drives decatenation by topoisomerase II in eukaryotes. *Science* 331, 1328-1332.
2. Lopez, V., Martínez-Robles, M.L., Hernández, P., Krimer, D.B., and Schwartzman, J.B. (2012). Topo IV is the topoisomerase that knots and unknots sister duplexes during DNA replication. *Nucleic Acids Res* 40, 3563-3573.
3. Martínez-Robles, M.L., Witz, G., Hernández, P., Schwartzman, J.B., Stasiak, A., and Krimer, D.B. (2009). Interplay of DNA supercoiling and catenation during the segregation of sister duplexes. *Nucleic Acids Res* 37, 5126-5137.
4. Watson, J.D., and Crick, F.H.C. (1953a). Molecular structure of nucleic acids. *Nature* 161, 737-738.
5. Watson, J.D., and Crick, F.H.C. (1953b). Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acids. *Nature* 171, 964-967.

Pie de figura. Intermediario de replicación del plásmido bacteriano pBR-TerE@AatII recubierto con la proteína RecA y visualizado por microscopía de fuerza atómica (AFM). El inserto en el ángulo superior derecho corresponde al análisis de las formas no replicadas del mismo plásmido por electroforesis bidimensional en geles de agarosa de alta resolución en presencia de cloroquina (López et al., 2012).



SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



Ensamblaje de la cromatina e integridad genómica

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2014.05.1

Félix Prado

Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa (CABIMER)

Biografía

El Dr. Félix Prado (Madrid, 1968) es licenciado en Biología por la Universidad de Sevilla (1991), donde realizó una tesis doctoral (1992-1996) bajo la dirección del Dr. Andrés Aguilera sobre los mecanismos de inestabilidad genética asociados a repeticiones en el ADN. Tras una estancia posdoctoral en el laboratorio del Dr. Miguel Beato en la Philipp-Universität en Marburg (Alemania) (1997-2000), estudiando la importancia del posicionamiento nucleosómico en la regulación transcripcional, se reincorporó a la Universidad de Sevilla dentro del programa Ramón y Cajal. En el año 2006 obtuvo una plaza como Científico Titular del CSIC, y desde entonces dirige un grupo de investigación en el Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina regenerativa (CABIMER), cuyos principales logros se centran en la importancia de la dinámica de la cromatina en la estabilidad genética y el ciclo celular, así como en los mecanismos de tolerancia a estrés replicativo.

Resumen

El ensamblaje del ADN en cromatina genera una estructura altamente dinámica que regula el metabolismo de los cromosomas. Defectos en el proceso de ensamblaje de nucleosomas por déficit de histonas o mutaciones en genes que codifican factores de ensamblaje, situaciones asociadas a cáncer y envejecimiento, causan roturas en las horquillas de replicación e inestabilidad genética.

Summary

The assembly of DNA into chromatin generates a highly dynamic structure that regulates chromosome metabolism. Defective nucleosome assembly by histone depletion or mutations in genes encoding chromatin assembly factors, conditions associated with cancer and aging, causes replication fork breakage and genetic instability.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA: http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

La interacción entre histonas y ADN genera una estructura nucleoproteica – la cromatina – que facilita el empaquetamiento del material genético dentro del reducido espacio que le proporciona el núcleo. Más allá de esta función estructural, pronto se demostró que las histonas constituyen una “armadura” dinámica que limita y regula la interacción del ADN con los factores que dirigen la replicación, la transcripción o la segregación cromosómica (Kornberg y Lorch, 1999). Su unidad repetitiva – el nucleosoma, formado por 4 pares de las histonas canónicas: H3, H4, H2A y H2B – puede ser desplazado, alterado estructuralmente con histonas no canónicas, y modificado covalente – y reversiblemente – mediante la adición de residuos químicos. Estas modificaciones no sólo alteran la accesibilidad del ADN, sino que generan un código de información adicional al genético (determinado por la secuencia de ADN) llamado código epigenético (Strahl y Allis, 2000). La pérdida de integridad genómica es una característica tanto de los procesos tumorales como de numerosas enfermedades genéticas. La íntima conexión entre ADN e histonas plantea cuál es el papel que la cromatina tiene en el mantenimiento de la estabilidad genética y la proliferación celular. De acuerdo con su potencial regulador, la cromatina tiene funciones esenciales en la respuesta a daños en el ADN, controlando los mecanismos que reparan los daños y los que coordinan esa reparación con la progresión a lo largo del ciclo celular (Soria et al., 2012).

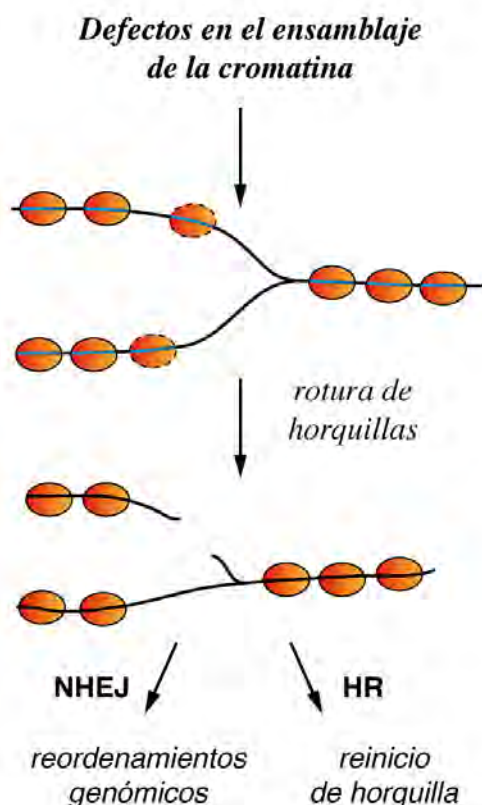
En nuestro grupo nos hemos planteado si defectos en la dinámica e integridad de la cromatina pueden ser una fuente adicional de inestabilidad genética, y en caso afirmativo, cómo responden las células a esos daños en el ADN. Estas preguntas son particularmente relevantes en cuanto que la integridad de la cromatina puede verse afectada tanto por mutaciones como por agentes genotóxicos que afectan a la deposición de las histonas y a los patrones de marcas epigenéticas. De hecho, el envejecimiento celular está asociado a modificaciones en los patrones epigenéticos y a reducciones en los niveles disponibles de histonas (O'Sullivan y Karlseder, 2012).

El estudio del intercambio de histonas canónicas por histonas variantes pone de manifiesto la importancia de la

dinámica de la cromatina sobre la integridad funcional del genoma. La sustitución de H2A por H2A.Z, catalizada por el complejo SWR1, facilita la regulación transcripcional, el silenciamiento de cromatina, la actividad de la cromatina centromérica y la reparación de daños en el ADN. Mientras que la ausencia de H2A.Z da lugar a una actividad genotóxica del complejo SWR1 sobre la cromatina que genera defectos transcripcionales y de reparación, la ausencia del complejo SWR1 afecta a la dinámica de los centros de reparación (Morillo-Huesca et al., 2010).

No obstante, el principal mecanismo de inestabilidad genética asociado a defectos en la dinámica de la cromatina parece estar ligado al ensamblaje de los nucleosomas durante la replicación. El ensamblaje del ADN en cromatina durante la fase S está físicamente y genéticamente acoplado a la síntesis de ADN. El ensamblaje en cromatina de todo el genoma requiere una fuerte demanda de histonas durante la fase S; éstas son rápidamente depositadas tras la horquilla de replicación mediante un proceso que requiere chaperonas, modificaciones específicas de histonas, y ensambladores de cromatina. Mutaciones en genes que codifican algunos de estos factores están asociados a cáncer y enfermedades genéticas, pero el hecho de que tengan funciones adicionales a su papel en ensamblaje de nucleosomas hace difícil determinar cómo promueven la enfermedad (Burgess y Zhang, 2013). Mediante aproximaciones genéticas en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, hemos demostrado que una reducción en los niveles disponibles de histonas causa una pérdida de estabilidad del replisoma y la consecuente rotura de

horquillas de replicación, resaltando la importancia de un estricto control de los niveles de histonas en la integridad genómica (Clemente-Ruiz y Prado, 2009). Estos datos sugieren un papel activo del proceso de ensamblaje de cromatina en la estabilidad de las horquillas de replicación y, en consecuencia, en el mantenimiento de la integridad genómica. De acuerdo con esa hipótesis, hemos demostrado que mutaciones en genes que controlan diferentes pasos del proceso de deposición de las histonas H3 y H4 causan roturas de horquillas de replicación (Clemente-Ruiz et al., 2011). Por tanto, los defectos en el ensamblaje de la cromatina son una fuente potencial de inestabilidad genética. Sin embargo, estos mutantes son capaces de completar la replicación con relativamente pocos reordenamientos genómicos, lo cual consiguen gracias a una eficiente reparación por recombinación homóloga (HR, homologous recombination) que evita que las roturas se procesen por unión de extremos no homólogos (NHEJ, non-homologous end-joining) (Clemente-Ruiz y Prado, 2009; Clemente-Ruiz et al., 2011) (ver Figura). Aunque necesitamos determinar el impacto de mutaciones que afecten al ensamblaje de los nucleosomas sobre la estabilidad de las horquillas replicativas y la acumulación de daños en el ADN en células humanas, nuestros resultados sugieren que defectos en el proceso de ensamblaje de cromatina pueden ser una causa importante del estrés replicativo asociado a cáncer y envejecimiento. Es por ello importante determinar las causas moleculares mediante las cuales los nucleosomas recién ensamblados estabilizan las horquillas de replicación, y qué condiciones genéticas y ambientales comprometen este proceso.



Referencias

- Burgess, R.J., and Zhang, Z. (2013). Histone chaperones in nucleosome assembly and human disease. *Nat Struct Mol Biol* 20, 14–22.
- Clemente-Ruiz, M., and Prado, F. (2009). Chromatin assembly controls replication fork stability. *EMBO Rep.* 10, 790–796.
- Clemente-Ruiz, M., González-Prieto, R., and Prado, F. (2011). Histone H3K56 Acetylation, CAF1, and Rtt106 Coordinate Nucleosome Assembly and Stability of Advancing Replication Forks. *PLoS Genet* 7, e1002376.
- Kornberg, R.D., and Lorch, Y. (1999). Twenty-five years of the nucleosome, fundamental particle of the eukaryote chromosome. *Cell* 98, 285–294.
- Morillo-Huesca, M., Clemente-Ruiz, M., Andújar, E., and Prado, F. (2010). The SWR1 Histone Replacement Complex Causes Genetic Instability and Genome-Wide Transcription Misregulation in the Absence of H2A.Z. *PLoS ONE* 5, e12143.
- O'Sullivan, R.J., and Karlseder, J. (2012). The great unravelling: chromatin as a modulator of the aging process. *Trends in Biochemical Sciences* 37, 466–476.
- Soria, G., Polo, S.E., and Almouzni, G. (2012). Prime, Repair, Restore: The Active Role of Chromatin in the DNA Damage Response. *Molecular Cell* 46, 722–734.
- Strahl, B.D., and Allis, C.D. (2000). The language of covalent histone modifications. *Nature* 403, 41–45.

Pie de figura. El ensamblaje de nucleosomas previene la inestabilidad de las horquillas de replicación.

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



Simbiogénesis y bricolaje metabólico

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2014.06.1

Juli Peretó

Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva de la Universidad de Valencia

Biografía

Juli Peretó se doctoró en Química por la Universitat de València y realizó estudios postdoctorales en la Universidad de Pennsylvania. Profesor Titular de Bioquímica y Biología Molecular, investigó en bioquímica vegetal y, tras un paréntesis dedicado a la gestión universitaria, desplegó todo su interés sobre la evolución metabólica en el Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva al que se incorporó en 2003. Actualmente trata de enseñar metabolismo a futuros biotecnólogos y cree que un día tendremos una explicación más que razonable de cómo la geoquímica dio paso a la bioquímica en la Tierra primitiva. De siempre ha pensado que la divulgación de la ciencia le ayuda a saldar su deuda con la sociedad: ha organizado más de 60 ciclos de debates y conferencias e impartido más de 150 charlas de temática científica para el público general, profesorado o estudiantes desde educación primaria hasta la universidad.

Resumen

Las asociaciones simbióticas entre microorganismos originaron los primeros eucariotas pero luego, durante su evolución, ha habido muchas más fusiones de ramas del árbol de la vida. Así, las bacterias endosimbiontes y las microbiotas intestinales modelan el metabolismo de los insectos. Todos los eucariotas son verdaderos mosaicos metabólicos.

Summary

Symbiotic associations between microorganisms originated the first eukaryotes but then, during its evolution, there have been many mergers of branches of the tree of life. For instance, bacterial endosymbionts and intestinal microbiota sculpt insect metabolism. All eukaryotes are true metabolic mosaics.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA: http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

Las simbiosis ancestrales originaron nuevos estilos de vida después de la fusión de redes metabólicas de organismos de vida libre. Mitocondrias y cloroplastos comparten ancestros directos con las bacterias y el nucleocitoplasma eucariótico probablemente deriva de una arquea. Pero, además, en el transcurso de la evolución eucariótica ocurrieron muchas más simbiosis. Uno de los casos mejor estudiados son las asociaciones mutualistas entre insectos y bacterias endosimbiontes instaladas dentro de células especializadas. El hecho de que estas bacterias no sean cultivables limita mucho su estudio, pero gracias a las técnicas “ómicas” y la modelización metabólica nos podemos acercar a sus funciones [1].

¿Qué es una cucaracha? Comprender la fisiología de un animal como la cucaracha requiere tener en cuenta que el individuo es el resultado de la interacción de la expresión de sus genomas nuclear y mitocondrial, más la expresión del genoma de una población de bacterias endosimbiontes ubicadas en su cuerpo graso, más las actividades de una rica y diversa microbiota intestinal. La secuenciación de diversos genomas de la bacteria simbiote intracelular *Blattabacterium cuenoti*, ha permitido entender mejor el metabolismo del nitrógeno de las cucarachas [2]. A diferencia de la mayoría de los insectos, las cucarachas no excretan el exceso de nitrógeno en forma de ácido úrico. Más bien lo depositan en células especializadas de su cuerpo graso (uricocitos), adyacentes a las células de reserva de lípidos y glucógeno (trofocitos) y a las que contienen las bacterias endosimbiontes (bacteriocitos). Estudios clásicos de fisiología mostraron que las cucarachas movilizan el ácido úrico durante los periodos de escasez de proteína mientras que reponen los depósitos de nitrógeno cuando ingieren suficiente proteína, excretando el nitrógeno sobrante en forma de amoníaco (sic). Esto supone una notable excepción a las reglas que hace ochenta años estableció Joseph Needham en sus estudios de bioquímica comparada y que aprendemos en los manuales: nadie esperaría que un insecto fuese amoniotélico en lugar de uricotélico [3].

¿Cómo convertir un producto de desecho como el ácido úrico en una reserva metabólicamente útil? La respuesta está en la simbiosis. El genoma del animal es insuficiente para instruir una ruta metabólica completa desde el ácido úrico hasta la glutamina, puerta de entrada del nitrógeno en el metabolismo. Sin embargo, con la ayuda de una ureasa del endosimbionte bacteriano la transformación es posible [4]. En periodos de ayuno proteico, el insecto

activa en los uricocitos una ruta uricolítica que transforma ácido úrico en urea. La urea es hidrolizada a amoníaco y CO₂ por la ureasa de *Blattabacterium*. Pero el endosimbionte no puede sintetizar glutamina por lo que el amoníaco debe ser sustrato de la glutamina sintasa del insecto. Este mosaico metabólico entre insecto y bacteria obra el prodigio metabólico. Y el amoníaco que rebosa del sistema es el que observaron los fisiólogos [5].

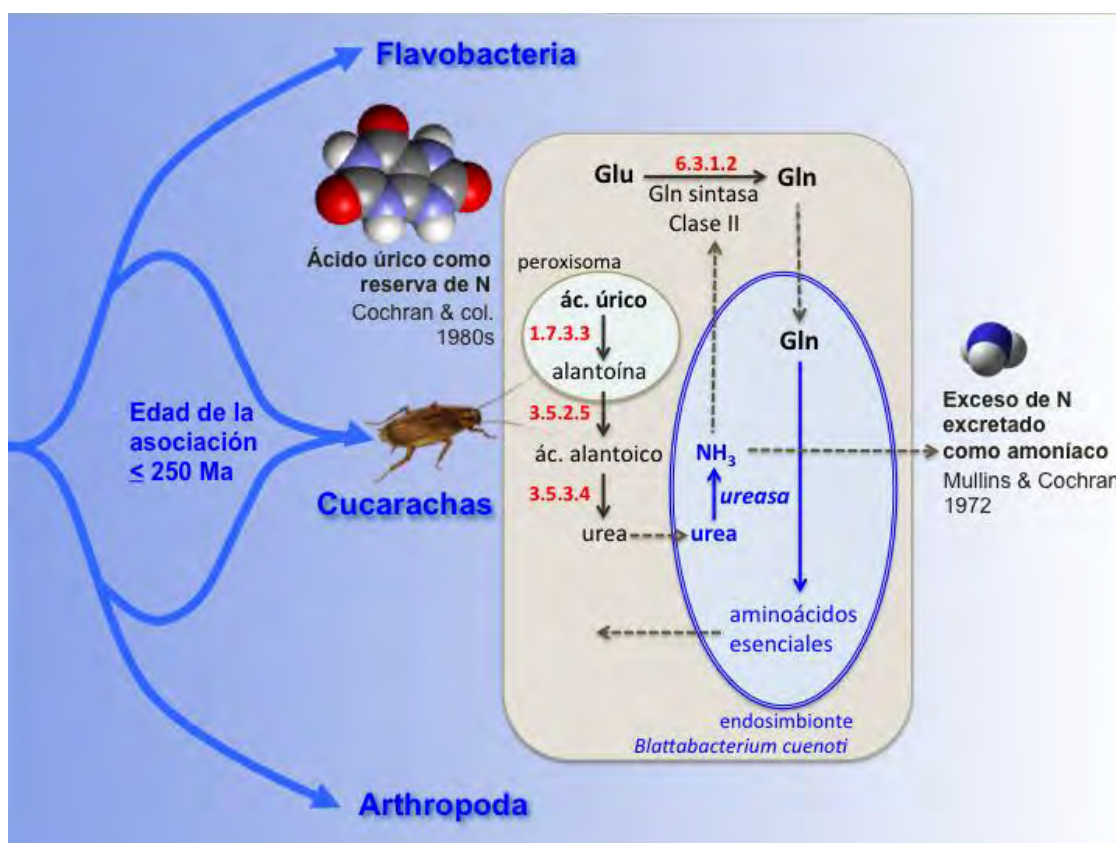
¿Es ésta la única solución que ha encontrado la evolución para dotar a un insecto de un depósito de nitrógeno asequible? Las termitas son un grupo derivado de las cucarachas pero todas, excepto *Mastothermes darwiniensis*, perdieron las poblaciones intracelulares de *Blattabacterium*. En este caso se sabe que el metabolismo del ácido úrico se delegó en la microbiota intestinal que además contiene las herramientas enzimáticas para hacer posible el estilo de vida xilófago característico de estos insectos [2]. La simbiosis fue, otra vez, fuente de innovación metabólica en animales.

La aparición de insectos con metabolismos peculiares como resultado de la asociación con bacterias ilustra principios evolutivos básicos. En primer lugar, la evolución por simbiosis no encaja en el esquema sugerido por Charles Darwin de un árbol de la vida en el que los linajes emergen por divergencia. Sin embargo, hoy tenemos muchos ejemplos de evolución por fusión de ramas evolutivas, algo que sin duda hubiese fascinado al mismo Darwin. No solo sabemos que la simbiosis fue el mecanismo básico del origen de la complejidad eucariótica sino que hemos de reconocer su fuerza innovadora durante la diversificación de los eucariotas. Por otro lado, en su monografía sobre las orquídeas, inspirado por la maravillosa coevolución de flores e insectos polinizadores, el naturalista inglés propuso que la evolución opera muchas veces construyendo mecanismos nuevos con

artilugios viejos. A escala molecular, François Jacob evocó el bricolaje como una metáfora del proceder de la evolución: reciclar estructuras moleculares previas para ejecutar funciones nuevas [6]. La capacidad de las cucarachas de guardar nitrógeno en forma de ácido úrico para cuando éste escasea solo se puede comprender a la luz de la evolución por simbiosis y de la emergencia de chapuzas metabólicas útiles y asombrosas. Teniendo en cuenta que en nuestro intestino hay del orden de 150 veces más genes bacterianos que los que contiene un genoma humano [7], ¿cuántas sorpresas aguardan tras el estudio bioquímico de la microbiota intestinal y la complementación con las capacidades metabólicas codificadas por nuestro genoma?

Referencias

[1] Moya A, Peretó J (2011) *Simbiosis: seres que evolucionan juntos*. Madrid: Ed. Síntesis.
 [2] Patiño-Navarrete R, Moya A, Latorre A, Peretó J (2013) Comparative genomics of *Blattabacterium cuenoti*: the frozen legacy of an ancient endosymbiont genome. *Genome Biol. Evol.* **5**, 351-361.
 [3] Cochran D (1985) Nitrogen excretion in cockroaches. *Annu. Rev. Entomol.* **30**, 29-49.
 [4] López-Sánchez M, Neef A, Peretó J, Patiño-Navarrete R, Pignatelli M, Latorre A, Moya A (2009) Evolutionary convergence and nitrogen metabolism in *Blattabacterium* strain Bge, primary endosymbiont of the cockroach *Blattella germanica*. *PLoS Genet.* **5**, e1000721.
 [5] González-Domenech CM, Belda E, Patiño-Navarrete R, Peretó J, Moya A, Latorre A (2012) Metabolic stasis in an ancient symbiosis: genome-scale metabolic networks from two *Blattabacterium cuenoti* strains, primary endosymbionts of cockroaches. *BMC Microbiol.* **12**, S5.
 [6] Peretó J (2011) Origin and evolution of metabolisms. En: *Origins and evolution of life. An astrobiological perspective*. Gargaud M, López-García P, Martin H, eds. Cambridge: Cambridge University Press, cap. 18, p. 270-288.
 [7] Quin J *et al.* (2010) A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* **464**, 59-65.



Pie de figura. Mosaico metabólico entre el insecto y su endosimbionte.

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



Especial Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2013 Del tráfico de membrana a la comunicación neuronal

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2014.07.1

José A. Esteban

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CSIC-UAM)

Biografía

José A. Esteban se licenció en Ciencias Biológicas en la Universidad Complutense de Madrid en 1988, y obtuvo el título de Doctor en Ciencias por la Universidad Autónoma de Madrid en 1993. A continuación realizó estancias postdoctorales en Estados Unidos, en la Universidad de Vermont y en Cold Spring Harbor Laboratory (Nueva York). Fue en esta institución donde se inició en el estudio de los mecanismos de comunicación neuronal y su plasticidad basada en procesos de transporte de membrana. En 2002 inició su grupo de investigación propio en la Universidad de Michigan (EEUU), donde profundizó en estos trabajos y contribuyó a la identificación de la maquinaria molecular que dirige y transporta los receptores de neurotransmisor en las neuronas. En 2008 volvió a España, donde ahora dirige el grupo de "Mecanismos moleculares y celulares de la plasticidad sináptica" en el Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa", de Madrid.

Resumen

Cada célula es una pequeña fábrica que produce y exporta distintas sustancias. Estos cargamentos se empaquetan en pequeños compartimentos de membrana llamados vesículas, que son luego transportados por el interior de la célula para llegar al lugar correcto en el momento adecuado. El trabajo de Schekman, Rothman y Südhof sobre este proceso ha merecido el Premio Nobel de Fisiología o Medicina 2013.

Summary

Every cell is a little factory that produces and releases different substances. This cargo is packed in small membrane compartments called vesicles, which are then transported within the cell to reach the right place at the correct moment. The work of Schekman, Rothman and Südhof on this process has deserved the Nobel Prize in Physiology or Medicine 2013.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA: http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

El Premio Nobel de Fisiología o Medicina del año 2013 ha estado dedicado a un problema biológico fundamental: ¿cómo se transportan y distribuyen las distintas sustancias y cargamentos en el interior de la célula y las destinadas a ser liberadas al exterior? Todas las células contienen un complejo sistema de transporte interno, cuya existencia ya era conocida desde los trabajos pioneros de George Palade en los años 1960 (1), (Premio Nobel en 1974). Sin embargo, sólo en los últimos 20 años se ha conseguido un conocimiento razonablemente completo de su organización y regulación interna, en gran medida gracias a las investigaciones de Randy Schekman, James Rothman y Thomas Südhof, galardonados en 2013 con el Premio Nobel de Fisiología o Medicina.

Randy Schekman realizó casi todo su trabajo en la Universidad de California, en Berkeley. Su aproximación al problema del transporte intracelular fue fundamentalmente genética. Para ello utilizó un organismo cuya manipulación genética es relativamente sencilla, como es la levadura cervecera. Schekman estudió mutantes en los que el sistema de transporte era defectuoso, dando lugar a "atascos" en el tráfico intracelular. A continuación, aisló los genes cuya mutación producía los defectos de transporte, y generó un mapa anatómico y funcional, en el que distintos genes controlan pasos específicos en el transporte de membrana entre distintos compartimentos en el interior de la célula (2). Esta cartografía diseñada sobre la célula de levadura es esencialmente la que se utiliza hoy en día para entender el funcionamiento interno de células tan dispares como las neuronas o las células secretoras de insulina en el páncreas.

James Rothman realizó la mayor parte de sus investigaciones relacionadas con este Premio Nobel en la Universidad de Stanford. Su trabajo consistió fundamentalmente en la disección bioquímica del proceso de fusión de membrana. Este proceso es extremadamente específico, para evitar la mezcla de cargamentos en los compartimentos incorrectos y el caos intracelular. Rothman descubrió una serie de proteínas que se anclan específicamente en distintas vesículas o en la superficie

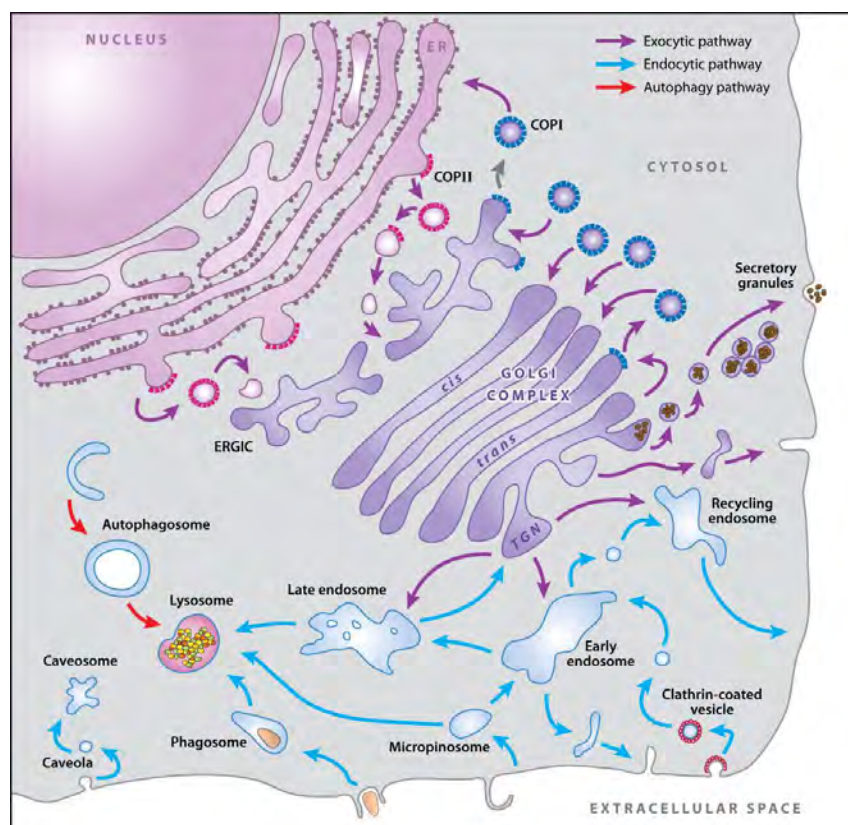
de la célula, y fuerzan la fusión de las membranas en los sitios adecuados. Para ello empleó técnicas de fraccionamiento y purificación de distintos compartimentos de membrana en células de mamífero. De esta forma, por primera vez, se identificaron componentes de la maquinaria molecular que ejecuta el transporte y la fusión de las membranas (3). Thomas Südhof realizó la mayor parte de su trabajo de investigación en la Universidad de Texas Southwestern, en EEUU. Sus investigaciones están encaminadas a entender estos mecanismos en una de las células más evolucionadas y especializadas que se conocen, como son las neuronas en el cerebro. Aquí el proceso que se estudió fue la liberación de neurotransmisor, que permite la comunicación de una neurona a otra. Las vesículas que contienen los neurotransmisores permanecen inmóviles hasta la llegada del estímulo nervioso (potencial de acción), que dispara la fusión de la vesícula con la membrana sináptica en tiempos inferiores a un milisegundo (4). Esta precisión y rapidez son fundamentales para la comunicación nerviosa. Una de las contribuciones fundamentales del laboratorio de Thomas Südhof ha sido la identificación de una serie de proteínas en las vesículas de neurotransmisor que unen Ca^{2+} y actúan como sensores que detectan la llegada del impulso nervioso y disparan con gran rapidez la fusión de membrana (5). Además, estas investigaciones supusieron un cambio conceptual, al descubrir que la fusión de membrana podía ocurrir de forma regulada, en respuesta a estímulos determinados. Ahora se sabe que éste no es sólo el caso de las neuronas, sino también el de la mayor

parte de las células endocrinas, del sistema inmune y otros tipos celulares.

En conclusión, estos estudios nos han llevado en dos direcciones complementarias. Por un lado, nos han permitido entender los mecanismos básicos del transporte intracelular de membrana, que operan en todas las células eucariotas y son fundamentales para su organización interna y correcto funcionamiento. Por otro lado, nos han ofrecido un ejemplo de cómo estos mecanismos pueden adaptarse a los requerimientos específicos de distintos tipos celulares, como es el caso de la liberación de neurotransmisor en las neuronas.

Referencias

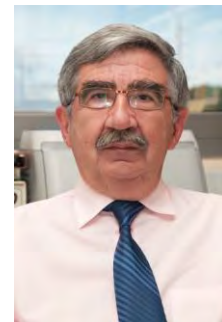
1. Palade GE. The organization of living matter. Proc Natl Acad Sci U S A. 52:613-34, 1964.
2. Schekman R. Genetic and biochemical analysis of vesicular traffic in yeast. Curr Opin Cell Biol. 4:587-92, 1992.
3. Waters MG, Griff IC, Rothman JE. Proteins involved in vesicular transport and membrane fusion. Curr Opin Cell Biol. 3:615-20, 1991.
4. Südhof TC. Neurotransmitter release: the last millisecond in the life of a synaptic vesicle. Neuron 80:675-90, 2013.
5. Pang ZP, Südhof TC. Cell biology of Ca^{2+} -triggered exocytosis. Curr Opin Cell Biol. 22:496-505, 2010.
6. De Matteis MA, Vicinanza M, Venditti R, Wilson C. Cellular assays for drug discovery in genetic disorders of intracellular trafficking. Annu Rev Genomics Hum Genet. 14:159-90, 2013.



Pie de figura. Esquema representativo de las distintas rutas de transporte intracelular de membrana. Extraído de (6).

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



La respuesta celular al estrés

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2014.08.1

César de Haro

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CSIC-UAM)

Biografía Resumen

César de Haro Castella es Investigador Científico del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) en el Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, CSIC-Universidad Autónoma de Madrid. Es Licenciado y Doctor en Ciencias Químicas por la Universidad de Salamanca. Durante tres años (1976-78), trabajó en el Roche Institute of Molecular Biology (Nutley, NJ) bajo la dirección del Dr. Severo Ochoa. Sus trabajos siempre han estado centrados en el estudio de los mecanismos de control de la expresión génica de células eucarióticas a nivel del proceso de la traducción de sus ARN mensajeros. Actualmente, es Director del Instituto de Biología Molecular "Eladio Viñuela" (CSIC) y Patrono y Secretario General de la Fundación Carmen y Severo Ochoa.

La respuesta al estrés en eucariotas implica cambios adaptativos en la expresión génica. Uno de los primeros acontecimientos en este proceso es la activación de las proteínas quinasas que fosforilan el factor de iniciación de la traducción eIF2, que promueve la reprogramación celular de la síntesis de proteínas. La fosforilación de eIF2 conduce a una inhibición general de la síntesis de proteínas inducida por estrés, y la activación traduccional de muchos ARNm implicados en la recuperación celular. Esta regulación culmina con la restauración de la homeostasis celular necesaria para la supervivencia y la adaptación.

Summary

Stress response in eukaryotes involves adaptive changes in gene expression. One of the earliest events in this process is the activation of protein kinases that phosphorylate the translation initiation factor eIF2, which promotes the whole-cell reprogramming of protein synthesis. Stress-induced eIF2 phosphorylation leads to a general inhibition of protein synthesis, and the translational activation of many mRNA involved in cellular recovery. This regulation culminates with the restoration of cellular homeostasis that is necessary for survival and adaptation.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA: http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

En respuesta a distintas situaciones fisiológicas de estrés que incluyen infección viral, falta de nutrientes, radiación ultravioleta y choque térmico, la fosforilación transitoria de la subunidad α del factor de iniciación de la traducción en las células eucarióticas, eIF2, reduce rápidamente la síntesis global de proteínas, lo cual atenúa el gasto energético, y facilita la reprogramación de la expresión génica para remediar el daño.

Virtualmente, en todas las situaciones de estrés celular se produce la fosforilación de eIF2 α , activándose alguna de las eIF2 α quinasas de manera específica. Dicha fosforilación produce una profunda inhibición de la síntesis de proteínas en general, y al mismo tiempo, la activación traduccional de un conjunto de genes implicados en la respuesta al estrés celular. En las células de mamífero se han identificado cuatro eIF2 α quinasas que están reguladas por distintas señales: HRI, por deficiencia de hierro; PKR, por ARN de doble cadena producido en células infectadas por virus; PERK, por situaciones de estrés en el retículo endoplásmico; y GCN2, por privación de aminoácidos o suero y por radiación ultravioleta (1). En la levadura de fisión *Schizosaccharomyces pombe* están presentes GCN2 y dos eIF2 α quinasas relacionadas con el HRI de mamíferos (Hri1 y Hri2). En células de mamífero, cuando se activan GCN2 o PERK mediante sus correspondientes estímulos, se inhibe la traducción global pero se estimula la síntesis del factor de transcripción ATF4, que a su vez regula la expresión de genes de respuesta a estrés (CHOP, BiP, otros), favoreciendo el crecimiento y la supervivencia celular (2). Es bien sabido que en una situación de escasez de aminoácidos se activa Gcn2, la única eIF2 α quinasa presente en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, promoviendo un incremento significativo en la traducción del gen Gcn4, un factor de transcripción necesario para la supervivencia celular. En respuesta a distintos tipos de estrés, la levadura *Schizosaccharomyces pombe* aumenta rápidamente los niveles de eIF2 α fosforilado mediante la activación de alguna de sus eIF2 α quinasas.

Así: i) tras el choque térmico o durante la privación de glucosa, se activa Hri2; ii) tras los estreses oxidativo o genotóxico, se activa Gcn2; iii) tras el agotamiento de los nutrientes al final de la fase exponencial de crecimiento, se activa Hri1; y iv) tras la privación de nitrógeno, se activan Gcn2 y Hri1. Además, la fosforilación de eIF2 α por Gcn2 es esencial para la supervivencia de la levadura en medio mínimo, tras el estrés oxidativo o los niveles bajos de glucosa (3).

En respuesta a la infección viral se activa PKR y se promueve la inhibición de la traducción de los ARN mensajeros virales y la consiguiente inhibición de la replicación del virus. También, el GCN2 actúa como un agente antiviral frente a diversos virus ARN con tropismo por el sistema nervioso central. Así: i) el ARN de distintos virus (Sindbis, HIV-1, Polio, otros) activan al GCN2; ii) células de ratón que carecen de GCN2 son más permisivas a la infección por el virus Sindbis (SV) y un pequeño exceso de GCN2 inhibe la replicación viral; y iii) ratones desprovistos de GCN2 son más susceptibles a la infección intranasal con SV, detectándose una carga viral en el cerebro de estos ratones GCN2 $^{-/-}$ muy superior a la encontrada en los ratones control (4).

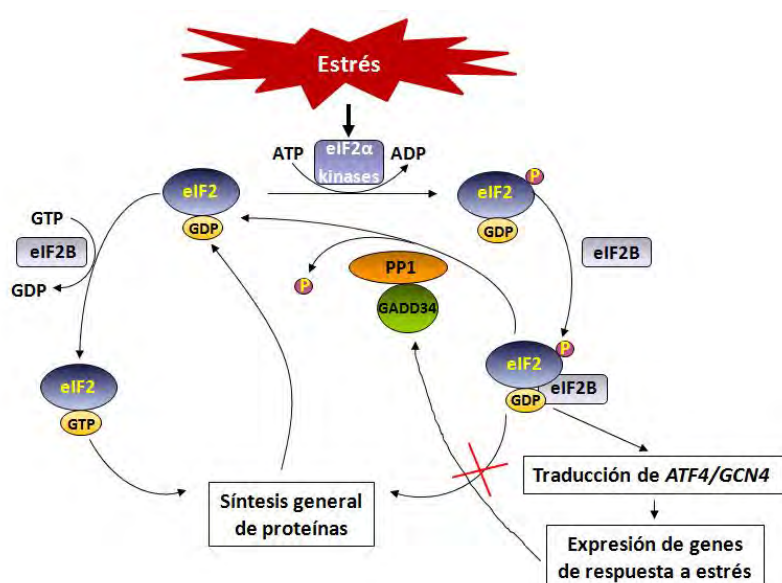
Existen cada vez más trabajos que relacionan directamente un aumento en los niveles de eIF2 α fosforilado con procesos neurodegenerativos. En efecto, alguna eIF2 α quinasa es responsable de mantener elevados los niveles de eIF2 α fosforilado durante la muerte neuronal inducida por estrés oxidativo en la enfermedad de Alzheimer. En estudios de plasticidad sináptica se ha observado una relación íntima entre la síntesis de proteínas *de novo*, el aprendizaje y la memoria. Así, el GCN2 regula la plasticidad sináptica, el aprendizaje y la memoria modulando la ruta de señalización de ATF4/CREB (5). En este sentido, se han observado niveles elevados de eIF2 α fosforilado tanto en cerebros de pacientes como en sistemas modelo de ratón con la enfermedad de Alzheimer. Recientemente, se ha demostrado que la delección genética de las eIF2 α

quinasas PERK o GCN2 disminuye la fosforilación de eIF2 α , aumenta la síntesis de proteínas y además, estimula la plasticidad sináptica y la memoria espacial de ratones modelo con la enfermedad de Alzheimer (6). Estos descubrimientos sugieren que PERK y GCN2 son dianas terapéuticas potenciales para mejorar la disfunción sináptica y la memoria de los individuos con enfermedad de Alzheimer.

Los cambios post-transcripcionales tempranos de la expresión génica que se producen tras el estrés celular, especialmente la reprogramación de la traducción promovida por el aumento en los niveles de eIF2 α fosforilado, generan las señales y los instrumentos (síntesis de proteínas *de novo*, entre otros) necesarios para organizar una respuesta integrada que propicie la adaptación y la supervivencia de las células y los animales.

Referencias

1. Dever TE "Gene-specific regulation by general translation factors" Cell 108:545-546 (2002)
2. Han et al. "ER-stress-induced transcriptional regulation increases protein synthesis leading to cell death" Nature Cell Biology 15:481-490 (2013)
3. Martín R, Berlanga JJ & de Haro C "New roles of the fission yeast eIF2 α kinases Hri1 and Gcn2 in response to nutritional stress" J. Cell. Sci. 126:3010-3020 (2013)
4. Berlanga et al. "Antiviral effect of the mammalian translation initiation factor eIF2 α kinase GCN2 against RNA viruses" EMBO J. 25:1730-1740 (2006)
5. Costa-Mattioli et al. "Translational control of hippocampal synaptic plasticity and memory by the eIF2 α kinase GCN2" Nature 436:1166-1173 (2005)
6. Tao et al., "Suppression of eIF2 α kinases alleviates Alzheimer's disease-related plasticity and memory deficits" Nature Neuroscience 16:1299-1305 (2013)



Pie de figura. Regulación de la expresión génica a nivel de traducción por las eIF2 α quinases.



SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS

La dUTPasa, una NTP-pirofosfatasa $\text{todo-}\alpha$ que controla el nivel de uracilo en el ADN

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2014.09.1

Dolores González-Pacanowska

Instituto de Parasitología y Biomedicina “López-Neyra” de Granada, CSIC

Biografía Resumen

Dolores González-Pacanowska es Profesora de Investigación en el Instituto de Parasitología y Biomedicina. Licenciada en Biología y Doctora en Bioquímica por la Universidad de Granada realizó una estancia postdoctoral en la Universidad de California, San Francisco, estudiando aspectos de la estructura y función de enzimas implicadas en la síntesis de timidilato. Tras unos años como Profesora Titular de Bioquímica en la Universidad de Granada se trasladó al Instituto de Parasitología y Biomedicina del CSIC. Su actividad investigadora ha estado centrada en el estudio de la biología de protozoos de elevado impacto médico y ha contribuido de manera significativa a la identificación de nuevas dianas farmacológicas y estrategias terapéuticas para el tratamiento de las enfermedades olvidadas. Sus principales hallazgos están relacionados con el metabolismo de la timina y el uracilo habiendo caracterizado extensamente una nueva superfamilia de enzimas, las nucleótido hidrolasas $\text{todo-}\alpha$.

El pool de nucleótidos celular contiene nucleósidos trifosfato no-canónicos que resultan de procesos de oxidación o desaminación o que son intermediarios del metabolismo celular como el dUTP. La eliminación de estos nucleótidos es fundamental para la preservación de la integridad genética. Dentro de las diferentes superfamilias de nucleótido hidrolasas que existen desde el punto de vista estructural está la superfamilia de las NTP-pirofosfatasa $\text{todo-}\alpha$, un conjunto de enzimas que, entre otras funciones, hidrolizan el dUTP.

Summary

The cellular nucleotide pool contains non-canonical nucleoside triphosphates that result from both oxidation and deamination events of canonical nucleotides and intermediary nucleotide metabolism (such as dUTP). The elimination of these nucleotides is essential for preservation of genetic integrity. Proteins hydrolyzing NTPs with cleansing functions can be found in structurally different superfamilies. One of such families is the all- α -NTP-pyrophosphatase superfamily that includes enzymes that efficiently hydrolyze dUTP.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA: http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

El ADN y sus precursores, el pool de desoxirribonucleótidos, están expuestos a la acción de compuestos tóxicos. Los nucleótidos canónicos son constantemente modificados bajo condiciones fisiológicas, por reacciones de oxidación o desaminación, o debido a la exposición a agentes químicos exógenos como compuestos alquilantes. Algunos de los nucleótidos libres modificados o no-canónicos más comunes, son por ejemplo 8oxo-dGTP, 8oxo-dATP o 2oxo-dATP. También existen nucleótidos no-canónicos intermediarios del metabolismo cuya concentración debe ser controlada, como dITP, dXTP y dUTP. La eliminación de nucleótidos no-canónicos antes de que sean incorporados al ADN durante la replicación es esencial para el mantenimiento de la integridad genética. Las enzimas responsables de su eliminación son las NTP pirofosfatasa cuya función es hidrolizar los nucleósidos trifosfato y convertirlos en su forma monofosfato correspondiente, iniciando de esta forma un proceso de tipo catabólico. La actividad de estas nucleótido hidrolasas se incluye así en una función celular más general denominada *house-cleaning*. Hasta la fecha se han descrito cuatro superfamilias estructuralmente distintas: hidrolasas Nudix, dUTPasas triméricas, ITPasas y NTP-pirofosfatasa $\text{todo-}\alpha$. Una especial importancia como diana farmacológica ha adquirido recientemente MTH1, una proteína de la familia Nudix que hidroliza los nucleótidos 8-oxodGTP o 2-OH-dATP ya que inhibidores de la misma reducen eficazmente el crecimiento de células tumorales (Gad H *et al*, 2014). En el caso concreto del uracilo, se considera en líneas generales que no es un componente usual del ADN pero sin embargo está presente en el genoma como resultado de la desaminación de la citosina o a partir de una incorporación errónea de dUTP por parte de la ADN polimerasa durante la replicación. La desaminación de la citosina puede ser espontánea o mediada por enzimas específicas. En cuanto a la incorporación, la inserción de uracilo tiene lugar con una frecuencia de aproximadamente 100 residuos por día en células de mamíferos. Es llamativo que el dUTP, que no es un precursor canónico del ADN, se haya mantenido a lo largo de la evolución y sugiere un papel específico del uracilo en

procesos de diversificación y muerte celular lo que conlleva la existencia de mecanismos estrictos que permiten el control del cociente dUTP/dTTP durante la replicación. Una enzima que tiene un papel esencial en este proceso es la desoxiuridina 5'-trifosfato nucleótido hidrolasa (dUTPasa) (E.C.3.6.1.23). La dUTPasa cataliza la hidrólisis del dUTP a dUMP y pirofosfato, proporcionando el sustrato para la generación de dTMP y manteniendo baja la relación dUTP/dTTP para evitar que el dUTP sea incorporado erróneamente al ADN.

Protozoos de la familia *Trypanosomatidae* tienen un interés prioritario para el desarrollo de nuevos fármacos ya que son los agentes causales de enfermedades de gran impacto sobre todo en países del tercer mundo. La leishmaniasis, la enfermedad de Chagas o la enfermedad del sueño son enfermedades devastadoras que afectan a millones de personas (Dujardin *et al.*, 2010). Adicionalmente el protozoo *Trypanosoma brucei* constituye un paradigma para el estudio de diversos procesos como la variación antigénica o la edición del RNA. Hemos caracterizado el proceso de hidrólisis del dUTP en tripanosomátidos y explorado su papel en el metabolismo celular y en el mantenimiento de la integridad genética. Es de destacar que en la mayoría de los organismos desde eucariotas superiores pasando por bacterias y arqueas las dUTPasas son triméricas y están muy conservadas desde un punto de vista estructural. Por el contrario trabajo desarrollado en nuestro laboratorio ha permitido establecer que la familia *Trypanosomatidae* son hasta la fecha los únicos organismos eucarióticos que exhiben una forma dimérica (Harkiolaki *et al.*, 2004). Esta clase de dUTPasas son análogos y no homólogos de las dUTPasas triméricas tales como la enzima humana o la de *Plasmodium falciparum*. La identificación de una nueva clase de dUTP pirofosfatasa dimérica en los protistas *Leishmania major* y *Trypanosoma cruzi* dio lugar a la descripción de la nueva superfamilia de enzimas, las NTP-pirofosfatasa todo- α , estructuralmente diferenciadas por una alta composición en hélices alfa (Moroz *et al.* 2004). A través de un análisis estructural, se identificaron nuevos miembros de la superfamilia como la fosforribosil-ATP pirofosfatasa HisE, implicada en la síntesis de histidina, la NTP-pirofosfatasa MazG y las familias DR2231 y RS21-C6. Todas estas proteínas tienen como característica común un dominio MazG (Moroz *et al.*, 2005). Posteriormente se han identificado homólogos de la dUTPasa dimérica en los genomas de varias bacterias gram-positivas y sus fagos, que muestran que esta clase de enzimas no se limita a los parásitos de la familia *Trypanosomatidae*. Además de las diferencias ya descritas, las dUTPasas diméricas también se caracterizan por la existencia de inhibición por producto y de la capacidad de utilizar tanto dUTP y dUDP como sustratos, produciendo en ambos casos dUMP como producto final. La disminución de los niveles de dUTPasa en *Trypanosoma* produce un aumento en la tasa de mutación y recombinación, la formación de roturas de cadena de ADN y un aumento de la frecuencia de variación antigénica (Castillo-Acosta *et al.*, 2012).

En los últimos años se ha avanzado en el conocimiento de la superfamilia de nucleótido hidrolasas todo- α habiéndose

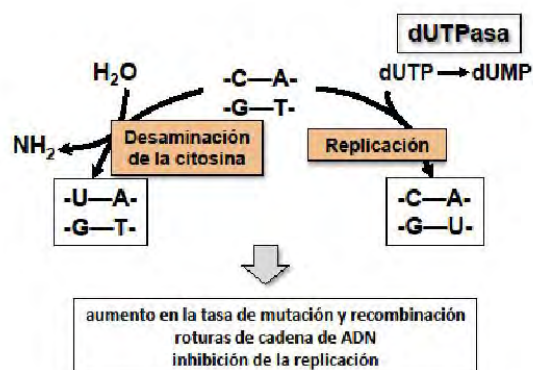
Pie de figura. Origen y consecuencias del uracilo en el ADN.

demostrado que algunas hidrolizan dUTP o, en el caso de MazG, que eliminan 5OH-dCTP teniendo por tanto un papel muy importante en la respuesta a estrés oxidativo. Recientemente hemos analizado el papel de la enzima DCTPP1 (de la familia RS21-C6), una nucleótido hidrolasa presente en células de mamífero tanto en el núcleo como en la mitocondria que hidroliza el dCTP, el metil-dCTP, nucleótidos halogenados en posición 5 y el 5-formil-dCTP. DCTPP1 tiene un papel fundamental en la homeostasis de nucleótidos primidínicos habiendo establecido que participa en el mantenimiento de los niveles intracelulares de dCTP (Requena *et al.*, 2014).

En definitiva las NTP pirofosfatasa desempeñan importantes funciones en la homeostasis de nucleótidos no-canónicos y en la preservación de la integridad genética. Algunas están emergiendo como prometedores blancos de acción de fármacos para el tratamiento de enfermedades infecciosas y cáncer. El conocimiento de su estructura y la colaboración en consorcios multidisciplinares con químicos y la industria farmacéutica está permitiendo la identificación de inhibidores específicos con potencial farmacológico.

Referencias

- 1.-Castillo-Acosta VM, Aguilar-Pereyra F, Bart JM, Navarro M, Ruiz-Pérez LM, Vidal AE, González-Pacanowska D. Increased uracil insertion in DNA is cytotoxic and increases the frequency of mutation, double strand break formation and VSG switching in *Trypanosoma brucei*. DNA Repair (Amst). 2012 Dec 1;11(12):986-95.
- 2.-Dujardin JC, González-Pacanowska D, Croft SL, Olesen OF, Späth GF. Collaborative actions in anti-trypanosomatid chemotherapy with partners from disease endemic areas. Trends Parasitol. 2010 Aug;26(8):395-403.
- 3.- Gad H, Koolmeister T, Jemth AS, Eshtad S, Jacques SA, Ström CE, Svensson LM, Schultz N, Lundbäck T, Einarsdóttir BO, Saleh A, Göktürk C, Baranczewski P, Svensson R, Berntsson RP, Gustafsson R, Strömberg K, Sanjiv K, Jacques-Cordonnier MC, Desroses M, Gustavsson AL, Olofsson R, Johansson F, Homan EJ, Loseva O, Bräutigam L, Johansson L, Höglund A, Hagenkört A, Pham T, Altun M, Gaugaz FZ, Vikingsson S, Evers B, Henriksson M, Vallin KS, Wallner OA, Hammarström LG, Wiita E, Almlöf I, Kalderén C, Axelsson H, Djureinovic T, Puigvert JC, Häggblad M, Jeppsson F, Martens U, Lundin C, Lundgren B, Granelli I, Jensen AJ, Artursson P, Nilsson JA, Stenmark P, Scobie M, Berglund UW, Helleday T. MTH1 inhibition eradicates cancer by preventing sanitation of the dNTP pool. Nature. 2014 Apr 10;508(7495):215-21.
- 4.-Harkiolaki M, Dodson EJ, Bernier-Villamor V, Turkenburg JP, González-Pacanowska D, Wilson KS. The crystal structure of *Trypanosoma cruzi* dUTPase reveals a novel dUTP/dUDP binding fold. Structure. 2004 Jan;12(1):41-53.
- 5.-Moroz OV, Harkiolaki M, Galperin MY, Vagin AA, González-Pacanowska D, Wilson KS. The crystal structure of a complex of *Campylobacter jejuni* dUTPase with substrate analogue sheds light on the mechanism and suggests the "basic module" for dimeric d(C/U)TPases. J Mol Biol. 2004 Oct 1;342(5):1583-97.
- 6.-Moroz OV, Murzin AG, Makarova KS, Koonin EV, Wilson KS, Galperin MY. Dimeric dUTPasases, HisE, and MazG belong to a new superfamily of all-alpha NTP pyrophosphohydrolases with potential "house-cleaning" functions. J Mol Biol. 2005 Mar 25;347(2):243-55.
- 7.-Requena CE, Pérez-Moreno G, Ruiz-Pérez LM, Vidal AE, González-Pacanowska D. The NTP pyrophosphatase DCTPP1 contributes to the homeostasis and cleansing of the dNTP pool in human cells. Biochem J. 2014 Apr 1;459(1):171-80.



SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



Elementos móviles del DNA en el genoma humano: un tesoro en la basura

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2014.10.1

José Luis García-Pérez

Genyo. Centro Pfizer – Universidad de Granada – Junta de Andalucía de Genómica e Investigación Oncológica

Biografía

José Luis García-Pérez estudió Farmacia en la Universidad de Granada. Realizó sus estudios de doctorado en Biología Molecular en el Instituto de Parasitología y Biomedicina López-Neyra (CSIC, Granada). Tras la defensa de su Tesis Doctoral, la cual recibió la mención de Premio Extraordinario de Doctorado por la Universidad de Granada, se unió al grupo del Dr. John V. Moran en la Escuela de Medicina de la Universidad de Michigan (Departamento de Genética Humana). En esta etapa, investigó cómo un elemento móvil del ADN humano (LINE-1) impacta nuestro genoma. Desde 2008 trabaja para el Sistema Sanitario Público de Andalucía contratado a través de la Fundación Pública Andaluza Progreso y Salud. Desde 2011 forma parte de Genyo (Pfizer-Universidad de Granada-Junta de Andalucía), donde lidera un grupo de investigación en el Área de Variabilidad Genética Humana de este centro. Ha participado en una decena de proyectos de investigación, y ha publicado más de 30 artículos de investigación en revistas internacionales (Nature, Cell, etc). Ha sido nombrado como Investigador Joven Internacional por la organización americana Howard Hughes Medical Institute, y recientemente recibió una Medalla por su labor investigadora en Biomedicina por la Junta de Andalucía.

Resumen

Los elementos móviles del DNA han y siguen impactando nuestro genoma a diversos niveles. Sorprendentemente, nuevos resultados indican que su movilidad en el cerebro de seres humanos podría ser fuente de plasticidad neuronal. Quizás, y pese a ser clasificados como “DNA basura”, estemos descubriendo un tesoro en nuestro cubo de basura.

Summary

Mobile genetic elements have impact/shaped our genome over evolution. Notably, active mobile pieces of DNA keep impacting our genome. Indeed, recent findings have demonstrated that their mobility in the human brain might participate in the generation of neuronal plasticity. Thus, and even if they have been considered as “junk DNA”, we may be discovering a treasure in our trash can.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA: http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

Sorprendentemente, la mayoría de nuestro genoma carece de capacidad codificante si bien cada vez hay más evidencias de que es clave para la regulación de este. Por otro lado, más de un 50% del genoma está formado por secuencias repetidas. A destacar, algunas secuencias repetidas poseen la capacidad de moverse y replicarse dentro del genoma y reciben el nombre de “elementos móviles”. Estos se clasifican en varios tipos en función de su mecanismo de movilización; desde elementos simples como los DNA transposones, que se mueven en forma de DNA hasta los denominados retrotransposones, que se movilizan utilizando una molécula de RNA intermediario y una actividad Reverso Transcriptasa. A su vez, los retrotransposones se pueden sub-clasificar en función de la presencia o ausencia de unas regiones terminales largas (o LTR de sus siglas en inglés) que participan en su mecanismo de movilidad. En nuestro genoma se pueden encontrar todos los tipos conocidos de elementos móviles, pero solo los elementos no-LTR denominados LINE-1 son aún activos en nuestro genoma.

Una sola célula humana posee más de medio millón de elementos LINE-1 en su genoma, lo que representa un 20% de la masa de este. Además, los elementos móviles LINE-1 son responsables de la movilidad de otros elementos no-LTR de nuestro genoma como *Alu* y *SVA*, otros RNAs no codificantes como U6 y mRNA celulares para generar pseudogenes procesados. Esta actividad en *trans* representa un 13% de nuestro genoma por lo que, en conjunto, la actividad de los elementos LINE-1 es responsable de más de un tercio de nuestro genoma y sigue teniendo un notable impacto en nuestros genomas.

Pese a su notable presencia en nuestro genoma, a día de hoy sólo entre 80-100 elementos LINE-1 son activos en un ser humano. Estos elementos activos se replican en nuestro genoma y, debido a su movilidad aleatoria, son capaces de integrarse dentro de genes causando entre otros efectos la generación de enfermedades genéticas como hemofilia, distrofia, cáncer, etc.(Figura 1a). Son, por tanto, elementos con un claro potencial mutagénico en nuestro genoma germinal o heredable. Por otro lado, es cada día más evidente que su actividad ha sido clave para la evolución del genoma de nuestra especie y han sido responsables de generar nuevos genes, e incluso ser domesticados para realizar

una función celular determinada como la enzima Telomerasa. Son considerados como un motor heredable de la evolución de nuestro genoma.

A día de hoy, su movilidad en seres humanos representa un paradigma funcional ya que en general tienen un efecto pernicioso para un individuo de la especie humana pero son clave para la evolución de nuestro genoma. Durante el proceso de su movilidad, los elementos móviles LINE-1 interaccionan con diversos factores celulares del hospedador, la mayoría aun por identificar, pero son el prototipo de “DNA egoísta” cuya única función es la de acumular más copias de sí mismos en nuestro genoma. Por ello, su actividad es regulada por nuestros genomas a través de diversos mecanismos y esta es una línea de investigación activa en la actualidad. De hecho, estudios evolutivos ponen de manifiesto cómo existe una batalla continua entre el DNA egoísta (LINE-1) y el hospedador (nuestro genoma) para combatir su actividad. La movilidad desregulada/descontrolada de cualquier elemento móvil es negativa para la especie ya que si la carga mutagénica que generan es muy alta, podría comprometer la continuidad de la especie. Por ello, los elementos LINE-1 han evolucionado para acumular nuevas copias de sí mismos en nuestro genoma germinal heredable. Además, estudios de diversos laboratorios han demostrado cómo la movilidad de LINE-1 en mamíferos ocurre con frecuencia durante el desarrollo embrionario temprano, antes de la generación de las células germinales de un individuo, asegurando así su dispersión en nuestros genomas. Sin embargo, su movilidad es sorprendentemente baja en células germinales. Estos resultados rompen un dogma en la biología ya que por

definición, no todas las células de nuestro cuerpo poseen el mismo genoma; así, somos un mosaico de genomas debido a la actividad de los elementos LINE-1 durante el desarrollo embrionario temprano (Figura 1b). Sin embargo no se conoce si este mosaicismos tiene algún impacto en nuestra biología.

Por otro lado, mediante la metilación de su promotor, la expresión y actividad de elementos LINE-1 está restringida en los tejidos somáticos adultos de nuestro cuerpo. Esto es así en todos nuestros tejidos salvo en cerebro humano y en determinadas condiciones patológicas como cáncer. Notablemente, su actividad en determinadas células del cerebro humano vuelve a plantear teorías acerca de su posible función en este; de igual modo, su desregulación en tejidos tumorales plantea nuevas preguntas acerca de su papel en la etiología y progresión de tumores humanos. A destacar, los pocos estudios disponibles demuestran que la movilidad de LINE-1s en seres humanos ocurre con una elevada frecuencia en cerebro humano, lo que plantea la provocadora hipótesis que su actividad en cerebro humano participe en la denominada “plasticidad neuronal”; sin que a día de hoy conozcamos si a causa de esta movilidad participa en la biología de nuestro cerebro.

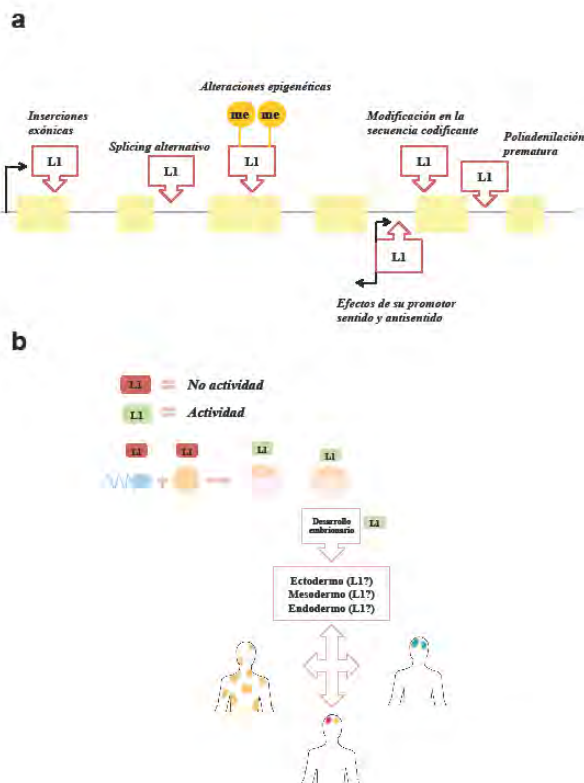
Sin duda alguna, y pese a ser aún clasificados como “DNA egoísta” o “DNA basura” sin función, los próximos años nos permitirán conocer más acerca del impacto que su movilidad ejerce en nuestro genoma germinal y somático.

Agradecimientos: Agradezco a la Lcda. en Bioquímica Meriem Benkaddour Boumzaouad su ayuda en la redacción de este artículo.

Referencias

- 1: Richardson SR, Morell S, Faulkner GJ. L1 Retrotransposons and Somatic Mosaicism in the Brain. *Annu Rev Genet.* 2014 Jul 14. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25036377.
- 2: Thomas CA, Paquola AC, Muotri AR. LINE-1 retrotransposition in the nervous system. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2012;28:555-73. doi: 10.1146/annurev-cellbio-101011-155822. Review. PubMed PMID: 23057747.
- 3: Hanks DC, Kazazian HH Jr. Active human retrotransposons: variation and disease. *Curr Opin Genet Dev.* 2012 Jun;22(3):191-203. doi: 10.1016/j.gde.2012.02.006. Epub 2012 Mar 8. Review. PubMed PMID: 22406018; PubMed Central PMCID: PMC3376660.
- 4: Beck CR, Garcia-Perez JL, Badge RM, Moran JV. LINE-1 elements in structural variation and disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2011;12:187-215. doi: 10.1146/annurev-genom-082509-141802. Review. PubMed PMID: 21801021; PubMed Central PMCID: PMC4124830.
- 5: Cordaux R, Batzer MA. The impact of retrotransposons on human genome evolution. *Nat Rev Genet.* 2009 Oct;10(10):691-703. doi: 10.1038/nrg2640. Review. PubMed PMID: 19763152; PubMed Central PMCID: PMC2884099.

Pie de figura. Impacto y movilidad de elementos LINE-1 en humanos.



SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



La conjugación bacteriana y el desafío de la resistencia a antibióticos

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2014.11.1

Itziar Alkorta

Unidad de Biofísica Centro Mixto CSIC-UPV

Biografía *Resumen*

Itziar Alkorta es licenciada en Química por la Universidad del País Vasco UPV/EHU (1989), donde también se doctoró en Bioquímica en 1994. Durante su estancia postdoctoral en el Lawrence Berkeley Laboratory, UC Berkeley, trabajó en la caracterización de la topoisomerasa I de Rhodobacter capsulatus. Tras sus estudios en Berkeley, en 1996 se incorporó al Grupo de Biomembranas del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad del País Vasco UPV/EHU de donde es profesora titular. Actualmente dirige un grupo de investigación en la Unidad de Biofísica Centro Mixto CSIC-UPV cuyo mayor objetivo es contribuir al conocimiento del mecanismo molecular de la conjugación bacteriana en general y de las proteínas acopladoras en particular para poder así aportar soluciones al problema de la diseminación de resistencias a antibióticos entre bacterias.

Las infecciones causadas por bacterias multirresistentes representan uno de los mayores problemas de salud pública. La conjugación bacteriana es el principal mecanismo responsable de la diseminación de resistencias a antibióticos entre bacterias. En particular la proteína acopladora (T4CP) es esencial en el proceso. Por tanto, el estudio del mecanismo molecular de estas proteínas puede aportar las claves necesarias para desarrollar estrategias terapéuticas alternativas en el tratamiento de dichas infecciones.

Summary

Infections caused by multiple antibiotic resistant bacteria represent one of the most important health problems. Bacterial conjugation is the main mechanism responsible for the spread of antimicrobial resistance among bacteria. In particular, the type IV coupling proteins (T4CP) are essential for bacterial conjugation. Therefore, the study of the molecular mechanisms of these proteins will contribute to the development of new therapeutic strategies against these infections.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA: http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

El descubrimiento de los antibióticos ha sido uno de los mayores logros de la medicina moderna. No obstante, en las últimas décadas, el problema de la **resistencia a antibióticos** se ha extendido a un gran número de cepas de bacterias patógenas. En concreto, alrededor del 70% de las infecciones bacterianas hospitalarias presentan resistencia a más de un antibiótico, hecho que complica extraordinariamente su tratamiento. Es por ello que la resistencia a antibióticos se ha convertido en una seria amenaza para la salud pública global; por otra parte, la creciente prevalencia de cepas bacterianas multirresistentes supone un grave problema económico y social [1].

El abuso y mal uso de los antibióticos, tanto en medicina como en veterinaria, destaca como la causa principal de la resistencia a antibióticos y, asimismo, contribuye a incrementar la presión ambiental requerida para mantener y diseminar los genes de resistencia a antibióticos en el mundo bacteriano. De forma preocupante, en la actualidad, esta situación se ha agravado como resultado de la disminución de recursos dedicados a la investigación en nuevos agentes antibacterianos y, de forma concomitante, la escasez de propuestas novedosas en el campo del tratamiento de las infecciones bacterianas. A la luz de esta problemática se hace imprescindible encontrar soluciones innovadoras que maximicen la eficacia de los tratamientos de control de las infecciones bacterianas.

La **conjugación bacteriana** es el mecanismo de transferencia de material genético más sofisticado y con mayor influencia en el flujo de genes entre bacterias, responsable de la citada adquisición de resistencia a antibióticos. La información genética necesaria para la



conjugación bacteriana se encuentra codificada en los **plásmidos conjugativos** y se transfiere de la bacteria donadora (aquella que contiene el plásmido) a la bacteria receptora (aquella que carece de dicho plásmido) mediante un mecanismo que implica el contacto directo entre ambas células. Los genes que codifican las proteínas necesarias para la resistencia a antibióticos y los factores de virulencia son, asimismo, transferidos mediante conjugación bacteriana. En consecuencia, los plásmidos conjugativos tienen una gran relevancia epidemiológica, como se deriva de su capacidad para promover la **diseminación horizontal de genes de resistencia a antibióticos entre bacterias**, contribuyendo al incremento de cepas patógenas multirresistentes.

El proceso de la conjugación bacteriana se puede dividir en tres etapas: (i) el **procesamiento del ADN sustrato** o formación del relaxosoma, (ii) su **reclutamiento** hasta el canal de secreción (T4SS) y (iii) la **translocación** del plásmido a la célula receptora a través del T4SS [2]. El plásmido conjugativo codifica todas las proteínas implicadas en el proceso, las cuales se clasifican en cuatro grupos funcionales: proteínas que procesan el plásmido para ser transferido, ATPasas que aportan energía, proteínas que forman el canal de secreción y proteínas formadoras del pilus.

La **proteína acopladora** (T4CP), una ATPasa que actúa como conector entre el relaxosoma y el T4SS, es un elemento clave en los sistemas conjugativos. La mayoría de las T4CP son proteínas integrales de membrana, formadas por un dominio transmembrana pequeño (TMD) y un dominio citosólico muy voluminoso, el cual está constituido por los dominios de unión a nucleótidos Walker A y Walker B característicos de las F_0F_1 ATPasas. Además de conectar el relaxosoma y el T4SS, las proteínas T4CP podrían estar implicadas en el aporte de la energía necesaria para transportar el relaxosoma a través del T4SS. A pesar de su importancia, no son muchas las T4CP estudiadas, siendo la T4CP del plásmido R388, TrwB, el prototipo de esta familia de proteínas. TrwB es una proteína integral de membrana de 507 aminoácidos en donde el dominio TMD está compuesto por los 70 primeros residuos N-terminales [3]. A pesar de la

presencia de los motivos de unión a nucleótidos en su dominio citosólico, hasta la fecha, la actividad ATPasa ha sido descrita únicamente en una proteína mutante soluble de TrwB a la que se había eliminado el TMD, TrwB Δ N70. Esta proteína mutante presenta actividad ATPasa dependiente de ADN [4]. Por otra parte, estudios sobre la unión a nucleótidos realizados con la proteína salvaje TrwB, purificada en presencia de detergente o reconstituida en liposomas, indican que tanto el dominio TMD como la propia membrana regulan la unión a nucleótidos de TrwB. Esta proteína silvestre muestra especificidad por ATP, a diferencia de TrwB Δ N70 que une indiscriminadamente cualquier nucleótido [5]. Los resultados de unión a nucleótidos y actividad ATPasa sugieren que el dominio TMD ejerce un papel regulador en la actividad de TrwB. Además de su interacción con el relaxosoma, TrwB interacciona con el T4SS a través de su TMD [6], subrayando el papel esencial del TMD en la comunicación de TrwB con los elementos del sistema conjugativo.

En la actualidad se están llevando a cabo estudios con otras T4CP con el fin de elucidar el mecanismo molecular de esta familia de proteínas. En concreto, el conocimiento de la regulación de la actividad ATPasa, mediante la comunicación entre los dominios transmembrana y citosólico de las T4CP, contribuirá al diseño de inhibidores específicos de estas proteínas en particular y de la conjugación bacteriana en general. El objetivo último de esta investigación es contribuir a la solución del problema de la adquisición de nuevas resistencias a antibióticos en bacterias patógenas.

Referencias

- [1] World Health Organization 2014, ISBN 978 92 4 156474 8.
- [2] Bhatti, M., Laverde Gomez, J. A. y Christie, P. J. (2013) *Res. Microbiol.* 164, 620-639.
- [3] Hormaeche, I., Alkorta, I., Moro, F., Valpuesta, J. M., Goñi, F. M. y de la Cruz, F. (2002) *J. Biol. Chem.* 277, 46456-46462.
- [4] Tato, I., Zunzunegui, S., de la Cruz, F. y Cabezon, E. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102, 8156-8161.
- [5] Vecino, A. J., Segura, R. L., Ugarte-Urbe, B., Águila, S., Hormaeche, I., de la Cruz, F., Goñi, F. M. y Alkorta, I. (2010) *BBA Biomembranes* 1798, 2160-2169.
- [6] Segura, R. L., Aguila-Arcos S., Ugarte-Urbe B., Vecino A. J., de la Cruz F., Goñi F. M. y Alkorta I. (2013) *BBA Biomembranes* 1828, 2015-2025.

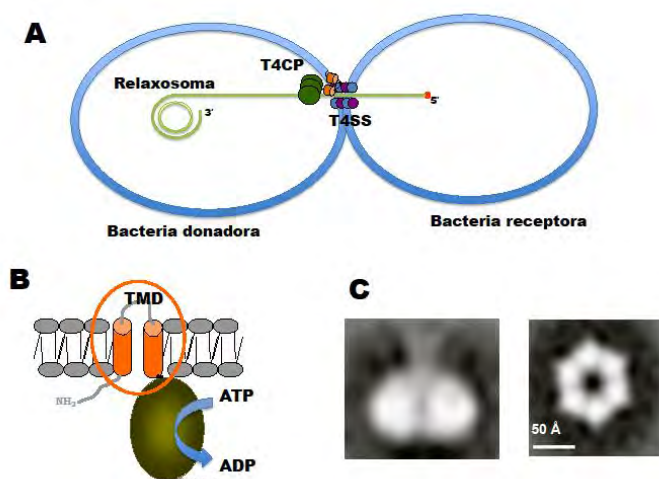


Figura. A) Esquema general de la conjugación bacteriana. (B) Representación esquemática de un monómero de la proteína acopladora. (C) Imagen de microscopía electrónica de un hexámero de la proteína acopladora TrwB [3].

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS

Las distrofias hereditarias de la retina: un doble reto

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2014.12.1

Enrique de la Rosa

Dpto. de Medicina Celular y Molecular, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC



Biografía Resumen

Investigador Científico del CSIC en el Centro de Investigaciones Biológicas de Madrid. Nacido en Madrid en 1959. Una hija y un hijo. Licenciatura en Ciencias (Sección Biológicas, especialidad Bioquímica) por la Universidad Autónoma de Madrid, Junio 1981. Doctor en Ciencias (Sección Biológicas) por la Universidad Autónoma de Madrid, Diciembre 1984. Postdoctorado en el Instituto Max-Planck de Biología del Desarrollo, Tübingen, Alemania (1986-1989), en el Instituto Cajal del CSIC (1989-1992) y en el Centro de Investigaciones Biológicas del CSIC (1992-1993). Científico en plantilla desde 1993. Objetivo global: caracterización de los mecanismos de regulación de procesos celulares básicos en condiciones fisiológicas (desarrollo embrionario principalmente) para su comprensión y posible manipulación en situaciones patológicas. Logros: i) Desarrollo de terapias neuroprotectoras. ii) Comprensión del papel de la muerte celular programada en relación con la neurogénesis, la distrofia y el envejecimiento de la retina. iii) Desarrollo de microchips nanoestructurados para la detección de parámetros intracelulares.

El estudio de las enfermedades degenerativas de la retina que llevan a la ceguera persigue comprender el exquisito balance de procesos moleculares y celulares en los que se basa la visión, y de cómo su desequilibrio lleva a la disfunción y la muerte de los fotorreceptores, pero también contribuir a desarrollar un tratamiento para este grupo de distrofias actualmente incurables.

Summary

The study of retinal degenerative diseases leading to blindness is aimed to understand the precise balance of molecular and cellular processes underlying the vision, as well as how their imbalance causes malfunction and photoreceptor cell death. But also to promote the development of a treatment for this, currently incurable, group of dystrophies.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA: http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

La retina de los vertebrados es una parte del sistema nervioso central contenida en el globo ocular y conectada con el cerebro a través del nervio óptico. Su función primordial es realizar la fototransducción, que consiste en convertir la energía electromagnética de luz en señales neuroquímicas y electroquímicas entendibles por el cerebro. También realiza las primeras etapas del procesamiento de la imagen visual. La fototransducción tiene lugar en el segmento externo de los fotorreceptores, conos y bastones, altamente polarizados. La estructura y fisiología celulares del fotorreceptor son muy complejas. Su correcto funcionamiento depende no solo del mecanismo de la fototransducción, sino también de interacciones intracelulares con la glía de Müller y el epitelio pigmentario, así como de su conexión con las neuronas post-sinápticas. El lector interesado puede encontrar una descripción detallada en *The Retina: An Approachable Part of the Brain, Revised Edition, John E. Dowling (2012)*.

Considerando toda esta complejidad estructural y funcional, es fácil entender que se hayan identificado más de 250 genes y loci génicos mutados en pacientes de distrofias hereditarias de la retina. A pesar de esta enorme diversidad en su origen, en muchos casos las manifestaciones clínicas son coincidentes: pérdida de los bastones por un proceso patológico de muerte celular programada, seguida de la muerte de los conos y la desorganización del resto de la retina. Ello lleva a la pérdida progresiva de visión, que empieza por ceguera nocturna y visión en túnel. No existe ninguna terapia eficaz para este tipo de ceguera.

El primer reto al que hago referencia en el título es el poder proporcionar a los pacientes un tratamiento. La curación de una enfermedad monogénica de penetrancia completa, como las que estamos refiriendo aquí, debe venir de la terapia génica. Sin embargo, la multitud de genes y loci implicados, las muy diversas mutaciones que presentan cada uno de ellos y los estadios progresivos de la enfermedad hacen necesario el desarrollo de varios tipos de terapias aplicables en diversos tipos de pacientes según el origen de la enfermedad y el estado de degeneración alcanzado. Las terapias independientes de la mutación son una alternativa necesaria. Nuestro grupo



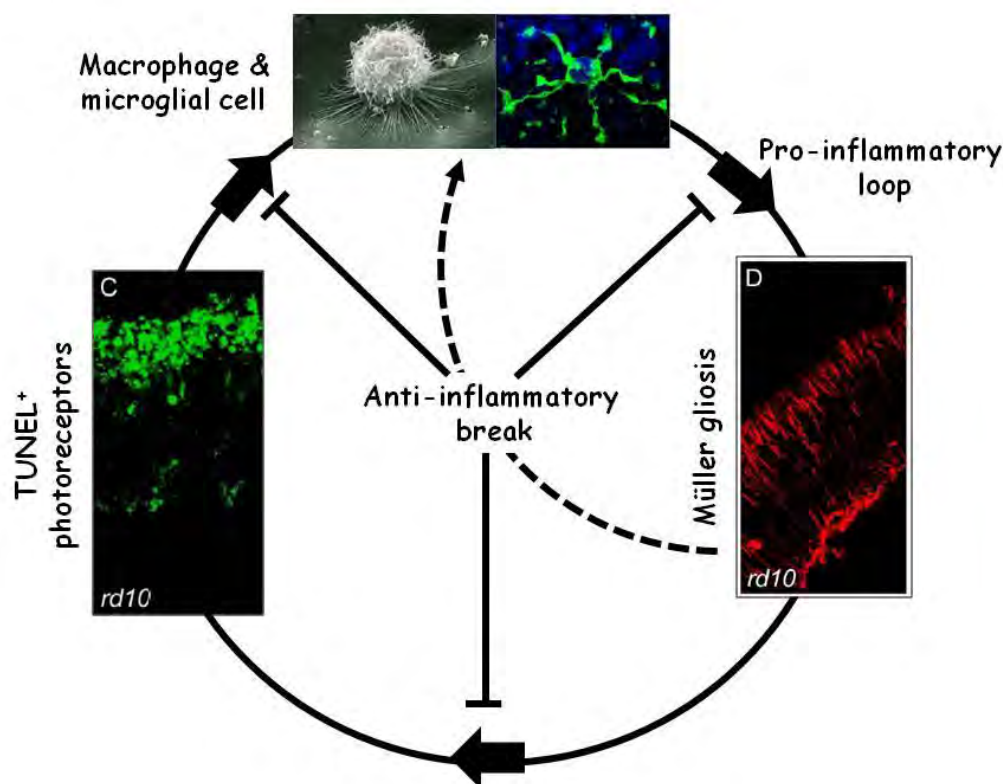
puso de manifiesto, trabajando en el modelo de desarrollo de la retina de embrión de pollo, que la proinsulina, el producto primario de traducción del gen de la insulina, es un factor de supervivencia neuronal. Dado que los mecanismos de regulación y ejecución de la muerte celular programada son similares tanto en condiciones fisiológicas como en las patológicas, nos decidimos por probar si la proinsulina podía ser también un factor neuroprotector de los fotorreceptores en ratones modelo de la enfermedad. Esta es una historia que ya he contado anteriormente y que está accesible en (http://apored.bq.uam.es/divulgacion/articulo_4.html).

El segundo reto es lograr comprender las bases moleculares y celulares de un grupo de condiciones fisiopatológicas tan complejo. Para abordar este apasionante reto científico, la neuroprotección ha resultado ser una herramienta esencial. Nos ha ayudado a caracterizar procesos intracelulares, en el propio fotorreceptor, así como intercelulares, entre el fotorreceptor y otras células de la retina, poco conocidos. Nuestros estudios han puesto de manifiesto un efecto dual de la microglía. La microglía es un linaje de macrófagos

residente en el sistema nervioso. Ante el daño genético en el fotorreceptor se produce una activación y polarización de la misma hacia fenotipo pro-inflamatorio, que parece colaborar en la muerte de los fotorreceptores. Un factor de supervivencia como el IGF-I, que retarda la muerte de los fotorreceptores, requiere para su acción de la microglía, posiblemente polarizada hacia un fenotipo anti-inflamatorio. Estos estudios son un ejemplo de cómo la neuroprotección ha definido una nueva diana terapéutica para la enfermedad: el proceso neuroinflamatorio asociado a la enfermedad.

Estamos probando nuevas familias de moléculas que modulan la inflamación con la idea de poder así desarrollar nuevas alternativas de tratamiento y, además, profundizar en la comprensión de la enfermedad. Ese es el doble reto que cubre desde los aspectos más básicos hasta el desarrollo de tratamientos para la neurodegeneración retiniana.

Figura. Un bucle neuroinflamatorio como posible diana terapéutica.



SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS

El Premio Nobel de Química 2013

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2014.12.2



Modesto Orozco

Dpto. de Modelos Moleculares y Bioinformática, IRB Barcelona

Biografía

Modesto Orozco es doctor en Ciencias Químicas por la Universitat Autònoma de Barcelona. Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular de la Universitat de Barcelona, investigador principal del Institute for Research in Biomedicine (IRB Barcelona), director del departamento de Ciencias de la Vida del Barcelona Supercomputing Center (BSC) y director del programa conjunto de Biología Computacional entre el Barcelona Supercomputing Center, el Centre de Regulació Genòmica i el Institute for Research in Biomedicine. Autor de más de 360 artículos científicos que han recibido cerca de 16000 citas. Su área de trabajo es la biología y la química computacional y su objetivo es avanzar en la descripción física microscópica de los sistemas biológicos. El Dr. Orozco ha recibido numerosos galardones por su tarea científica, en la actualidad es investigador del Programa ICREA academia.



Resumen

Cuando la Academia Sueca anunció en octubre del año pasado los galardonados con el premio Nobel de Química 2013 reconoció en las personas de Karplus, Levitt y Warshel a un campo de investigación con más de cuarenta años de historia. Un campo que nos ha permitido cambiar nuestra visión sobre los sistemas biomacromoleculares, permitiéndonos analizar mediante principios físicos básicos sistemas de enorme complejidad tales como proteínas, ácidos nucleicos, membranas biológicas o incluso virus completos.

Summary

When the Swedish Academy announced in October last year the 2013 Nobel Prize in Chemistry, awarded to Karplus, Levitt and Warshel, it also recognised a field of research with over forty years of history. A field that has allowed us to change our vision of biomacromolecular systems, allowing the analysis -through basic physical principles- of enormously complex systems such as proteins, nucleic acids, biological membranes or entire viruses.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA: http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

Las metodologías desarrolladas a partir de los trabajos de los tres premiados nos han dotado del equivalente a un “microscopio *in silico*” que nos permite descifrar las claves íntimas del funcionamiento de las macromoléculas biológicas. Hay pocas dudas que nuestra visión sobre la química de la vida sería mucho más limitada que lo es en la actualidad sin los trabajos pioneros de Karplus, Levitt y Warshel.

La historia de la biología estructural computacional comenzó a finales de los años sesenta en el laboratorio de Shenior Lifson (un visionario científico fallecido en 2001) en el Weizmann Institute en Israel. En un momento en el que todos los químicos teóricos miraban hacia la mecánica cuántica, Lifson pensó que era posible una alternativa: emplear la mecánica clásica con potenciales ajustados para reproducir la realidad experimental o cálculos cuánticos precisos.

A finales de los sesenta Lifson había delineado el primer “campo de fuerzas”, el *consistent force-field (CFF)* que él pensaba podía servir para estudiar incluso las biomacromoléculas que en esos momentos se empezaban a describir por cristalografía de rayos X. Fue en este periodo (en torno a 1967) cuando dos estudiantes de doctorado (Michael Levitt y Arieh Warshel) empezaron a codificar el *force-field* (Figura 1) en un programa FORTRAN que calculaba, no solo la energía de un sistema, sino sus derivadas primeras y segundas. En 1968 se publicó la primera minimización energética de una proteína mediante el uso de un campo de fuerza, algo que hubiera resultado impensable en ese momento (y posiblemente aún ahora) mediante metodología cuántica. Levitt y Warshel abandonaron Israel, el primero para continuar su tesis en Cambridge y el segundo para realizar un postdoc en el laboratorio del tercer laureado Martin Karplus. En aquel momento Karplus estaba estableciendo su grupo en Harvard, después de sus estudios de doctorado con Linus Pauling, su postdoc con Charles Coulson (Oxford), y sus estancias en Illinois y Columbia. Martin Karplus era una estrella emergente en el campo de la química teórica, uno de los primeros en ver el potencial que tenía estudiar los sistemas biológicos desde la perspectiva teórica.

A finales de los setenta se publicarían los dos artículos más influyentes en el campo, el primero [1] en el que Warshel demostraba que mediante simulación molecular era posible entender la primera etapa de un fenómeno tan complejo como la visión, y el segundo [2], donde Karplus y colaboradores presentaban la primera simulación de dinámica molecular de una pequeña proteína. El impacto de estas dos publicaciones en el campo fue rápido y contundente, conduciendo a que muchos otros grupos en Estados Unidos y Europa entraran a trabajar en el desarrollo de esta tecnología emergente.

Los noventa alumbraron nuevos campos de fuerza, que manteniendo el formalismo básico del CFF de Lifson fueron calibrados con mucho más cuidado. Gracias a ello se consiguió poder predictivo y popularizar, por ejemplo, el uso de cálculos de dinámica molecular para refinar modelos estructurales de rayos X o RMN. Es una década en la que es imprescindible reconocer el trabajo ingente de grupos como los de van Gunsteren, Berendsen, Brooks, Karplus, Scheraga, Kollman o Jorgensen (entre otros). Ellos fueron los que trasladaron las ideas iniciales en una metodología madura y accesible para toda la comunidad.

Las limitaciones intrínsecas derivadas del uso de mecánica clásica fueron visibles ya en los inicios del desarrollo de la dinámica molecular. Karplus, Levitt, Warshel y muchos otros se percataron que la aproximación puramente clásica limitaba, a menudo en exceso, el rango de aplicación de estos métodos a sistemas bioquímicos. Excluía, por ejemplo algo que a los tres les fascinaba: el estudio de la reactividad enzimática. Esto llevó a modificar el formalismo básico a fin de considerar el sistema dividido en dos partes, una pequeña (por ejemplo, el centro activo de un enzima), donde ocurren procesos cuya representación requiere un tratamiento cuántico del sistema (por ejemplo, una reacción química), y otra mucho más extensa, donde una descripción cuántica no es necesaria, ya que tratamos con interacciones débiles que se pueden representar razonablemente a partir de la mecánica clásica (Figura 2). Esta idea básica es la que ha dado lugar a los métodos híbridos QM/MM (QM por *quantum mechanics* y MM por *molecular mechanics*) que son los de elección para estudiar sistemas bioquímicos en los que se produzcan fenómenos de reactividad química.

Vista la historia, ¿Cuál podemos esperar que sea su futuro? Aventuro que el salto más importante en la simulación biomolecular, y en concreto en la dinámica

molecular, vendrá de la integración efectiva de datos experimentales en la simulación. Creo que en una década los grupos teóricos de simulación molecular irán incorporando *expertise* experimental, hasta acabar derivando en grupos híbridos, capaces de combinar sin discontinuidades resultados teóricos y experimentales. Paralelamente, los grupos hoy puramente experimentales se familiarizarán con el uso de información dinámica experimental. Parece también claro que las bases de datos estructurales, como el *protein data bank* (PDB), se expandirán para introducir parámetros de flexibilidad derivados de cálculos teóricos.

Podemos visualizar un escenario futuro donde la simulación molecular, iniciada por Karplus-Levitt-Warshel se combine con simulaciones más globales, propias de la biología de sistemas, e incluso con técnicas mecánicas de simulación de órganos, para dotarnos con una capacidad global de simulación de los sistemas vivos complejos, aproximándonos al sueño de crear avatares *in silico* de los seres vivos.

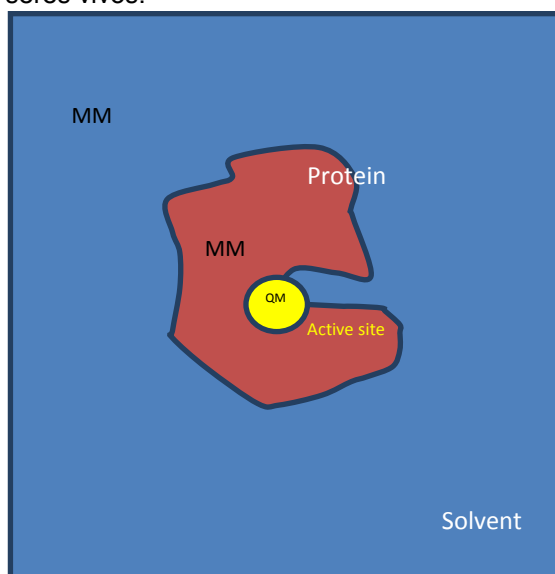


Figura 2. Representación esquemática de las particiones clásica (MM) y cuántica (QM) en un estudio de reactividad enzimática. La región en amarillo se correspondería al centro activo.

Referencias

- [1] (Warshel,A.; Nature, 1976, 260,679
 [2] (McCammon,J.A.; Gelin,B.R.; Karplus,M. Nature, 1977, 267, 679

$$E = \sum_{\text{all bonds}} K_{str}(l - l_0)^2 + \sum_{\text{all angles}} K_{bend}(\alpha - \alpha_0)^2 + \sum_{\text{all torsion angles}} 0.5 V_{tor}[1 - \cos(n\varphi + \delta)] + \sum_{\text{all charges}} \frac{Q_i Q_j}{R_{ij}} + \sum_{\text{all nonbonded pairs}} \left[\left(\frac{A_{ij}}{R_{ij}} \right)^{12} - 2 \left(\frac{C_{ij}}{R_{ij}} \right)^6 \right]$$

Figura 1. Esquema básico de un force-field clásico. La energía de "stretching (str)" viene determinada por las longitudes de enlace de equilibrio l_0 y la constante de fuerza del enlace K_{str} . El término de "bending (bnd)" depende del ángulo de equilibrio (α_0) y la constante de fuerza de bending (K_{bnd}). Las torsiones se expresan por una expansión de Fourier con términos de periodicidad "n" y potencial de barrera V_{tor} . Las interacciones de carga por un término clásico de Coulomb (cargas Q centradas en los núcleos). Finalmente las interacciones de repulsión-dispersión entre átomos se representan por un potencial clásico de van der Waals.