

Premio Nobel de Química 1997: Jens Skou, Paul Boyer y John Walker

El motor de la vida

El Premio Nobel de Química ha sido otorgado al Dr. Jens Skou, de Dinamarca, y a los Dres. Paul Boyer y John Walker, de Inglaterra y de los EE.UU., respectivamente. A Jens Skou lo premiaron por su descubrimiento de la enzima Na^+ , K^+ -ATPasa, que es el mayor consumidor de ATP del organismo. Paul Boyer y John Walker compartieron el premio por dilucidar la notable maquinaria molecular de la enzima ATPsintasa, que cataliza la producción de ATP.

Los investigadores premiados trabajaron sobre la forma en que las células del organismo producen, almacenan, utilizan y transfieren energía, demostrando el proceso global del mecanismo energético de la vida¹.

La gran mayoría de las células del organismo depende del empleo de ATP para su normal funcionamiento, incluyendo a las que son responsables de la neurotransmisión y de la contracción muscular hasta las que desempeñan otro tipo de funciones como las del tejido óseo.

Para que una célula se mantenga viva, necesita de la provisión de energía para innumerables reacciones bioquímicas que se llevan a cabo en su interior, y para el mantenimiento de diversos equilibrios con los constituyentes del medio circundante. La demanda energética es cubierta por la molécula de ATP, que al ser hidrolizada, separa un grupo fosfato, generando ADP y liberando la energía necesaria para la actividad celular. Luego, el ADP se fosforila, para formar nuevamente el ATP, sucediéndose ciclos de pérdida y recuperación. Se trata de una reacción en la que la célula genera energía, en oposición a numerosas reacciones en las que libera energía.

Jens Skou descubrió en 1957, la enzima que acopla la hidrólisis del ATP con la regulación de la concentración de los cationes sodio y potasio en la célula, proporcionando la base bioquímico-molecular para la expulsión del Na^+ y la recuperación del K^+ . Skou modificó sistemáticamente la concentración de cationes y observó que una fracción de un homogeneizado de tejido nervioso de cangrejo (*Carcinus maenas*), que contenía fragmentos de membranas celulares, mostraba actividad ATPásica Mg^{2+} dependiente. Esa actividad enzimática experimentaba una fuerte estimulación, si se adicionaba en forma conjunta a los iones sodio y potasio, en tanto que el agregado individual de estos iones producía una escasa estimulación². Este fue un hallazgo sorprendente, ya que la mayoría de las enzimas que requieren K^+ , son inhibidas por Na^+ . También resultó altamente significativo y ofreció grandes posibilidades para su estudio, que dicha estimulación de la actividad ATPásica por Na^+ y K^+ , fuera inhibida específica y selectivamente por el glucósido cardiotónico ouabaína. Estas observaciones fueron confirmadas, demostrándose que las fracciones de membranas celulares de diversos tejidos animales presentan actividad de ATPasa estimulada por Na^+ y K^+ . Las membranas de las células excitables, como las del cerebro, de los nervios, del músculo y del tejido eléctrico de la anguila (*Electrophorus electricus*), son particularmente ricas en esa enzima, como también los tejidos transportadores de Na^+ como la corteza renal y la glándula salival. El descubrimiento de la actividad de Na^+ , K^+ -ATPasa tuvo amplia repercusión para el conocimiento de diversos aspectos de la fisiología y bioquímica celular^{3,4}.

Merece señalarse, que las concentraciones de Na^+ y K^+ requeridas para inducir una activación máxima de la enzima de las fracciones de membranas celulares, son comparables a las necesarias para lograr una velocidad máxima del transporte activo de Na^+ y K^+ en los tejidos intactos. El proceso de transporte es vectorial, habiéndose dilucidado la estequiometría de la reacción, y se acepta el concepto

que la Na^+ , K^+ -ATPasa es la versión enzimática de la bomba de sodio. Existen centenares de enzimas relacionadas con el empleo del ATP, y se ha estimado que la sumatoria de la energía requerida para mantener las distintas funciones de nuestro organismo, implica la síntesis de cantidades importantes de ATP por día.

Boyer y Walker descubrieron el mecanismo por el que se produce la síntesis biológica del ATP, la molécula energética por excelencia. Determinaron con precisión el proceso por el cual el ADP residual recupera la unión fosfato de alta energía para formar nuevamente ATP, con la participación de una ATPasa estimulada por hidrogeniones (H^+). Este tema bioenergético es fundamental para el funcionamiento celular, ya que el ATP es para los seres vivos, como el combustible para una máquina. Su implicancia abarca también a la fisiología vegetal, porque está íntimamente relacionado con el proceso de la fotosíntesis.

La ATPsintasa es la enzima clave para la conversión de la energía en las mitocondrias, donde se sintetiza el ATP. Un conjunto de enzimas en la mitocondria, escinde los compuestos energéticamente ricos que son productos del metabolismo de los nutrientes. El transporte de electrones en la cadena respiratoria provoca la salida de H^+ de la matriz mitocondrial. Se genera así un gradiente electroquímico de H^+ , que según la teoría electroosmótica de Mitchell⁵, es la fuerza propulsora para la formación de ATP a partir de ADP y fosfato inorgánico, en una reacción vectorial catalizada por la ATPsintasa.

En la década del '70, se ideó un modelo mecánico para la enzima ATPsintasa, constituido por tres juegos de proteínas ensambladas: una que semeja una rueda que está alojada en la membrana interna de la mitocondria, una varilla con un extremo fijo al centro de la rueda, y un gran cilindro que envuelve y gira alrededor del otro extremo de la varilla y que golpea en la región interna de la mitocondria. El ATP se forma en tres sitios sobre el cilindro, y la varilla juega un papel clave en impulsar la actividad catalítica en esos sitios¹.

Paul Boyer, bioquímico de la Universidad de California, Los Angeles, elaboró una teoría sugiriendo que los H^+ hacen girar a la rueda (como una corriente de agua hace girar una rueda), cuando pasan a través de la membrana interna de la mitocondria hacia el compartimiento central. Dado que la varilla está unida a la rueda, también gira, haciendo que el otro extremo rote dentro del cilindro estacionario. La rotación implica cambios conformacionales en la proteína y altera ligeramente la estructura del trío de sitios activos en el cilindro, alineándolos para sintetizar las moléculas de ATP⁶. Boyer y col., observaron que, a diferencia de la mayoría de las enzimas, que usan energía para unir segmentos químicos, la ATPsintasa usa la energía para unir los elementos necesarios a la enzima y expeler las moléculas de ATP luego de su formación. La síntesis de ATP requiere relativamente poca energía en el microambiente catalítico, en relación con el gasto que demanda la liberación de la molécula para su ulterior empleo^{6,7}.

Posteriormente, esta teoría fue confirmada por Walker y col. en 1994, quienes mediante cristalografía por rayos X^{8,9}, crearon un mapa en escala atómica de la porción catalítica de la enzima, formada por el cilindro y la varilla. La estructura tridimensional resultante permitió visualizar cómo funcionada la enzima. Propusieron que, a cada instante, las tres subunidades catalíticas se encuentran en estadios diferentes del ciclo catalítico.

Las consecuencias de la modificación global de la síntesis de ATP y el mantenimiento de la actividad de Na^+ , K^+ -ATPasa, son esenciales para distintos aspectos del funcionamiento celular. Es bien conocido que la concentración de Na^+ juega un papel fundamental en el transporte de los aminoácidos e hidratos de carbono. Tanto la síntesis del ATP por la ATPsintasa, como su utilización por la Na^+ , K^+ -ATPasa, son cruciales para el mantenimiento de la excitabilidad de las neuronas. Su implicancia en la neurotransmisión se debe a que participa en la síntesis de neurotransmisores, en la reparación de los componentes de las membranas y esencialmente en mantener la actividad de la bomba de sodio⁴.

Las propiedades semipermeables de la membrana externa de las neuronas posibilitan la existencia de gradientes electroquímicos; aun en reposo, hay una pérdida constante de K^+ , que es notablemente mayor durante la neurotransmisión. La recuperación del K^+ contra su gradiente de concentración, implica una demanda de energía, con participación de la bomba de sodio. Se ha estimado que el cerebro, que representa sólo el 2% del peso corporal, consume un 20% del total del oxígeno que emplea nuestro organismo. Asimismo, más del 50% del total de la energía que emplea el cerebro, está destinada a mantener los requerimientos de la bomba de sodio, o sea, a mantener y restablecer los gradientes de iones a través de la membrana neuronal.

Entre las posibles implicancias de la alteración de la bomba de sodio, podríamos señalar que la mayoría de los neurotransmisores, luego de su liberación al espacio sináptico, se inactiva por mecanismos de recaptación por la misma neurona de la que se liberó o por captación a células circundantes; esos mecanismos de transporte dependen del buen funcionamiento de la bomba de sodio¹⁰. Para los transportadores de los neurotransmisores ácido γ -aminobutírico (GABA), glutamato, serotonina, de las catecolaminas noradrenalina y dopamina, se conoce el requerimiento de acoplamiento con los gradientes iónicos. Los fármacos capaces de bloquear la captación del GABA son potenciales agentes anticonvulsivantes, y aquellos que interfieren con la captación de serotonina, ofrecen un gran interés por el papel de dicho neurotransmisor en la depresión, en el sueño, en los desórdenes obsesivo-compulsivos, en la bulimia y en la obesidad.

En otro orden y dado que la dopamina es esencial en el control del movimiento, las drogas que modifican su mecanismo de transporte tienen implicancia en la liberación de hormonas y en patologías como el mal de Parkinson o la esquizofrenia. Asimismo, la alteración del transporte del glutamato (que es el neurotransmisor excitatorio más importante en el cerebro), puede limitar los efectos neurotóxicos de altas concentraciones sinápticas de este transmisor que acompañan cuadros de epilepsia o isquemia cerebral.

Haciéndonos eco de la expresión de uno de los laureados, diríamos que la formación y utilización del ATP funciona como una pequeña y hermosa máquina molecular. Dependemos de su óptimo funcionamiento para todo nuestro accionar y particularmente para las más complejas funciones intelectuales. Así es que el Comité que adjudicó la distinción, calificó al proceso estudiado, como "El motor de la vida".

Georgina Rodríguez de Lores Amaiz

Instituto de Biología Celular y Neurociencias Prof. Eduardo De Robertis,
Facultad de Medicina, UBA, Paraguay 2155, 1121 Buenos Aires

1. Service RF. Chemistry Prize Taps the Energy of Life. *Science* 1997; 278: 579.
2. Skou J. The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerves. *Biochem Biophys Acta* 1957; 23: 394-401.
3. Albers RW. Biochemical Aspects of Active Transport. *Ann Rev Biochem* 1967; 36: 727-56.
4. Stahl WL. The Na^+ , K^+ -ATPase of nervous tissue. *Neurochem Int* 1986; 4: 449-76.
5. Mitchell P. Keilin's respiratory chain concept and its chemiosmotic consequences. *Science* 1979; 206: 1148-59.
6. Boyer PD. A perspective of the binding change mechanism for ATP synthesis. *FASEB J* 1989; 3: 2164-78.
7. Boyer PD, Cross RL, Momsen W. A new concept for energy coupling in oxidative phosphorylation based on a molecular explanation of the oxygen exchange reactions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1973; 70: 2837-39.
8. Abrahams JP, Leslie AGW, Lutter R, Walker JE. Structure at 2.8 Å resolution of F_1F_0 -ATPase from bovine heart mitochondria. *Nature* 1994; 370: 621-8.
9. Walker JE. Determination of the structures of respiratory enzyme complexes from mammalian mitochondria. *Biochem Biophys Acta* 1995; 1271: 221-7.
10. Worrall DM, Williams DC. Sodium ion-dependent transporters for neurotransmitters: a review of recent developments. *Biochem J* 1994; 297: 425-36.