

## ¿Sistemas activos?

Javier Santos

IQUIFIB( CONICET).Departamento de Química Biológica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

Recibido:

**Recibido en:** 05/05/2015

| Aceptado:

**Aceptado en:** 06/05/2015

Contacto: Javier Santos - javiersantosw@gmail.com

### Resumen

Los sistemas biológicos presentan propiedades que dependen del conjunto de las partes y de sus interacciones. En este trabajo, se discute la importancia del contexto biológico y el significado del término actividad asociado al contexto. Así, una misma cadena polipeptídica puede codificar actividades diversas e incluso, en algunos casos, completamente contrapuestas. Se hace foco en el caso de la tioredoxina (TRX) como modelo de proteína multiuso y se intenta mostrar cómo su actividad (por ejemplo, asociada a la polimerasa T7, actividad oxidoreductasa, o a la actividad proinflamatoria, entre muchas otras) depende completamente del resto de los componentes del sistema, de la estructura de este último y del grado de control metabólico que ejerce la TRX. Por último, proponemos discutir estas ideas no como conceptos fijos e inmóviles sino más bien como puntos de partida de ideas nuevas y superadoras.

Palabras clave: actividad biológica, tioredoxina, sistemas biológicos, contexto biológico, estructura.

### Summary

Biological systems exhibit properties that depend on the whole of parts and their interactions. In this work, it is discussed the importance of the biological context and the meaning of biological activity. A single polypeptide chain may encode various activities and even, in some cases, completely opposed activities. I focus on thioredoxin (TRX) as a model of a multitasking protein. Remarkably, TRX activities (e.g. associated with the T7 polymerase oxidoreductase activity, or pro inflammatory activity, among many others) completely depend on the rest of the components of the system and its structure, and also depend on the degree of the metabolic control that this protein exercises. Finally, I propose to discuss these ideas not as fixed and

immobile but rather as starting points for new ideas, and concepts.

Keywords: biological activity, thioredoxin, biological systems, biological context, structure.

*“Podemos ver el correr tumultuoso de las aguas de un río que de continuo se penetran y funden entre sí. Pero para coger, para captar esa corriente no podríamos sino helar las aguas y tomar los bloques sólidos. Y en ese momento habríamos matado la corriente, el objeto de nuestro intento habría desaparecido. Aprender la realidad en conceptos fijos, inmóviles, es como helar la corriente del río, matar la realidad”*

Sobre ideas de HERÁCLITO (siglo V a.C)

## *Máquinas y Sistemas*

Las máquinas fabricadas por nosotros funcionan y, muchas veces, en general cuando más las necesitamos, dejan de hacerlo. Las máquinas son sistemas formados por partes o módulos. Cuando una máquina deja de funcionar la parte dañada puede reemplazarse por otra. En una máquina, cada parte cumple uno o más roles (actividades, funciones). ¿Pero cuando una parte se daña, quién deja de funcionar? ¿Lo hace la máquina o la parte? Esta pregunta es interesante porque nos remite a pensar en la función de la máquina como una propiedad emergente del sistema y no como una propiedad de un módulo en particular. Parecería que el término función entonces más bien se aplica a sistemas. La función de la máquina en un caso extremo podría depender de todos los elementos del sistema.<sup>A</sup>

Los seres vivos son seres vivos y no máquinas (las máquinas cuando se rompen pueden arreglarse mientras que los seres vivos, una vez que mueren, no pueden revivir). Así, desde un punto de vista biológico, no me parece muy relevante preguntarme si los organismos vivos funcionan o no. Las proteínas o cualquier otro subconjunto de macromoléculas que forman parte de los seres vivos tampoco son máquinas en un sentido estricto. Podemos encontrar algunas similitudes, sin embargo una de las diferencias más significativas es que sobre los organismos y las macromoléculas que los componen ha operado la evolución biológica.

## *¿Sistemas que Funcionan?*

Los organismos vivos *no son máquinas*. Sin embargo, sí son sistemas (biológicos) complejos formados por numerosos módulos y como tales presentan propiedades que dependen del conjunto de las partes y de su interacción. Es cierto que nosotros somos capaces de generar máquinas con componentes biológicos que pueden hacer exactamente lo que nosotros queremos (mejor dicho, casi exactamente). Así, dependiendo del contexto, la palabra **funciona** (que podría ser más propia de un ingeniero o biotecnólogo) va bien. ¿Funciona el test para la detección de fenilalanina? ¿Funciona la DNA polimerasa a 72°C? ¿Funciona el riñón artificial? Pero es importante notar que lo que funciona sigue siendo el sistema. En el segundo caso, la máquina es la polimerasa y su sustrato en un contexto.

## *Contexto Biológico y Actividad<sup>B</sup>*

Una vía metabólica consta de ciertos componentes como una fuente o sustrato, una serie de enzimas que son, por lo general, proteínas con actividad catalítica y metabolitos intermediarios. En este caso, podemos preguntarnos si la vía es activa en una condición metabólica dada o no. Es decir: ¿existe un flujo metabólico? Si existe, la vía entonces es activa y cada una de las enzimas que conforman la vía también lo es.

Como los sistemas biológicos son sistemas dinámicos y fuera del equilibrio, las variables tiempo y espacio son claves. Así, los factores espaciales y temporales parecen definir cambios radicales en las actividades de cada proteína<sup>C</sup> particular. Por lo general, en un sistema biológico una proteína puede presentar varias actividades. Algunas proteínas parecerían ser multiuso, mientras que otras, parecerían ser relativamente especializadas. Para estas últimas se han detectado por el momento una o unas pocas actividades.<sup>D</sup>

### *La Tiorredoxina (TRX) de Escherichia coli*

Uno podría preguntarse si para albergar muchas actividades una proteína debe ser estructuralmente especial, por ejemplo, si debe ser de gran tamaño, o si la proteína debe ser más bien rígida o quizá si fuese maleable, con regiones más móviles, podría incluir mayor número de actividades en el contexto celular, entre otras posibilidades.

Podemos tomar a la TRX como ejemplo. Esta proteína es relativamente pequeña (108 aminoácidos) muy estable ( $\Delta G^{\circ}_{\text{NU H}_2\text{O}} = 8.0 \text{ kcal/mol}$ , *in vitro*), globular, compacta ( $R_h = 17.9 \pm 0.5 \text{ \AA}$ ) y bastante rígida (a juzgar por resultados de experimentos de NMR (resonancia nuclear magnética) y por simulaciones de la dinámica molecular, en una escala de tiempo muy amplia que va desde los ps-ns hasta los  $\mu\text{s}$ -ms). Tiene una topología distintiva  $\alpha\beta\gamma$  [1-3].

En bacterias, la TRX participa en diversas reacciones redox vía la oxidación reversible del centro activo formado por la secuencia Cys-Gly-Pro-Cys. Esta actividad es fundamental en la regulación del ambiente redox intracelular, el crecimiento celular y en el ciclo celular.

La TRX dona electrones a enzimas como la ribonucleótido reductasa (RNR), una enzima dependiente de hierro que cataliza la formación de desoxirribonucleótidos a partir de ribonucleótidos.

Por otro lado, la TRX es crucial en la resistencia al estrés oxidativo, como parte del sistema TRX [4]. Este sistema está compuesto en la mayoría de los organismos por tres enzimas que se acoplan en una secuencia de reacciones que emplea NADPH como reductor del peróxido de hidrógeno, hidroperóxidos orgánicos y ácido peroxinitroso. El sistema está compuesto, en el extremo reductor, por una tiorredoxina reductasa (TR), una flavoenzima dependiente de NADPH [5]. El extremo oxidante a su vez está compuesto por una de varias peroxidasas dependiente de tioles, generalmente una peroxirredoxina (PRDX), capaz de reducir oxidantes con el grupo funcional ROOH [6]. Como vínculo entre ambos extremos está la TRX, una oxidorreductasa. En el sistema de nuestro interés, TRX acepta electrones de la TR y los cede a la PRDX haciendo que la vía completa se comporte como una NADPH peroxidasa. No obstante, la TRX actúa habitualmente como un centro de distribución de equivalentes de reducción, que tiene diversas interacciones específicas que incluyen como se mencionó más arriba varias actividades diferentes de la puramente antioxidante de la vía TR-TRX-PRDX.

La TRX en *E. coli* es también una subunidad del complejo DNA polimerasa del bacteriófago T7. Es importante notar que en este caso no se requiere la actividad redox dependiente de tioles. La TRX es esencial para la replicación del DNA del fago (vale la pena recordar: los bacteriófagos son virus bacterianos, siendo los organismos más numerosos sobre la tierra) [7-10].

### *La TRX humana, otras actividades*

La tioredoxina humana (hTRX) reduce puentes disulfuro en proteínas específicas, y esta actividad es fundamental en la modulación de ciertas vías de señalización intra y extracelulares a través de la inducción de factores de transcripción tales como p53 y NF-kB que regulan aspectos del crecimiento celular. Asimismo, la actividad TRX está aumentada en una importante variedad de tumores humanos. El incremento de TRX se asocia con la inhibición de la apoptosis, la promoción de la proliferación celular y el crecimiento tumoral agresivo. La hTRX posee actividad anti estrés oxidativo y propiedades antiinflamatorias. Por el contrario, la forma truncada (hTRX-80) tiene actividad proinflamatoria y potencia la diferenciación de macrófagos, presentando efectos aterogénicos en las enfermedades cardiovasculares[11-14].

Así una misma cadena polipeptídica puede codificar actividades diversas y en casos como este completamente contrapuestas.

fig1

**Figura 1:** *Distintos contextos biológicos, distintas actividades proteicas.* En el **panel A** se muestra a la hTRX (PDB ID: 4TRX) cuya estructura es prácticamente superponible con la estructura de la TRX bacteriana (PDB ID: 2TRX). En amarillo se muestra la región del sitio activo redox, que incluye a las cisteínas 32 y 35. En rojo los residuos 80-105. Este segmento está ausente en la variante hTRX-80. En el **panel B** se muestra a la TRX de *E. coli* (representación de cintas en color gris) formando un complejo con la tioredoxinareductasa (modelo de cintas en color azul) (PDB ID: 1F6M). En el **panel C** se muestra a la TRX de *E. coli* (en color gris) formando un complejo de síntesis de DNA con la polimerasa del bacteriófago T7 (PDB ID: 1T7P), en amarillo un ácido nucleico (DNA) que forma parte del complejo ternario de síntesis.

### *Algunas Conclusiones*

En el caso de la TRX parece quedar aclarado que la actividad TRX depende muy significativamente del contexto biológico en el que se encuentre.

El tipo de proceso proteico (actividad biológica) asociado a la cadena polipeptídica, a su estructura y a su dinámica depende del tipo de compartimentalización y del estado metabólico celular.

En otras palabras, la actividad depende también de resto de los componentes del sistema, de la estructura de este último y del grado de control que ejerza la proteína en cuestión, en relación con cada una de las actividades proteicas que en algunos casos pueden ser enzimáticas.

Por último vale la pena subrayar que las definiciones dadas aquí son precarias y que para nada intentan imponer ideas. Simplemente forman parte de uno de los tantos puntos de vista, y parafraseando a Heráclito nuevamente, aprehender la realidad en conceptos fijos, e inmóviles,

a veces puede no ser lo mejor.

#### Notas:

**A** Algunos elementos pueden ejercer más control que otros sobre la función. El control en algunos casos podría ser prácticamente nulo, dependiendo de la estructura del sistema.

**B** Si podemos definir proceso proteico como cualquier tipo de proceso en el que participen proteínas, entonces podemos definir actividad como uno de esos procesos asociado a la cadena polipeptídica.

**C** Una proteína: el producto dinámico de la expresión de un gen particular, incluyendo splicing alternativo, modificaciones postraduccionales, diversidad de subestados conformacionales, rearrreglos a nivel de la estructura cuaternaria, envejecimiento químico (deamidación, oxidación, autoproteólisis, entre otros procesos).

**D** ¿Será que en algunos casos aún no fuimos capaces de detectar otras de las actividades?

## Agradecimientos

Se agradece especialmente al Dr. Gerardo Ferrer-Sueta, al Dr. Bruno Manta y al Dr. José María Delfino. Se agradece También a ANPCyT, UBACyT y CONICET por posibilitar el estudio de la estructura y la actividad biológica de proteínas.

## Referencias:

1. **Binolfi A, Fernández CO, Sica MP, Delfino JM, Santos J** (2012) Recognition between a short unstructured peptide and a partially folded fragment leads to the thioredoxin fold sharing native-like dynamics *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* 80: 1448-1464.
2. **Santos J, Marino-Buslje C, Kleinman C, Ermácora MR, Delfino JM** (2007) Consolidation of the thioredoxin fold by peptide recognition: interaction between E. coli thioredoxin fragments 1-93 and 94-108 *Biochemistry* 46: 5148-5159.
3. **Stone MJ, Chandrasekhar K, Holmgren A, Wright PE, Dyson HJ** (1993) Comparison of backbone and tryptophan side-chain dynamics of reduced and oxidized Escherichia coli thioredoxin using nitrogen-15 NMR relaxation measurements *Biochemistry* 32: 426-435.
4. **Lu J, Holmgren A** (2014) The thioredoxin antioxidant system *Free Radical Biology and Medicine* 66: 75-87.
5. **Pillay CS, Hofmeyr JHS, Rohwer JM** (2011) The logic of kinetic regulation in the thioredoxin system. *BMC systems biology* 5: 15.
6. **Ferrer-Sueta G, Manta B, Botti H, Radi R, Trujillo M, Denicola A** (2011) Factors affecting protein thiol reactivity and specificity in peroxide reduction *Chemical research in toxicology* 24: 434-450.
7. **Akabayov B, Akabayov SR, Lee SJ, Tabor S, Kulczyk AW, Richardson CC** (2010) Conformational dynamics of bacteriophage T7 DNA polymerase and its processivity factor, Escherichia coli thioredoxin *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107: 15033-15038.
8. **Chiu J, Tillett D, March PE** (2006) Mutation of Phe102 to Ser in the carboxyl terminal helix of Escherichia coli thioredoxin affects the stability and processivity of T7 DNA polymerase. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* 64: 477-485.
9. **Ghosh S, Hamdan S M, Cook TE, Richardson CC** (2008) Interactions of Escherichia coli thioredoxin, the processivity factor, with bacteriophage T7 DNA polymerase and helicase *Journal of Biological Chemistry* 283: 32077-32084.
10. **Himawan JS, Richardson CC** (1996) Amino acid residues critical for the interaction between bacteriophage T7 DNA polymerase and Escherichia coli thioredoxin *Journal of Biological Chemistry* 271:19999-20008.
11. **Lee S, Kim SM, Lee RT** (2013) Thioredoxin and thioredoxin target proteins: from molecular mechanisms to functional significance *Antioxidants & redox signaling* 18: 1165-1207.
12. **Mahmood DFD, Abderrazak A, El Hadri K, Simmet T, Rouis M** (2013) The thioredoxin system as a therapeutic target in human health and disease *Antioxidants & redox signaling* 19: 1266-1303.
13. **Spindel ON, Berk BC** (2011) Thioredoxin-Interacting Protein Mediates TRX1 Translocation to the Plasma Membrane in Response to Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  A Key Mechanism for Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2 Transactivation by Reactive Oxygen Species *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 31: 1890-1897.
14. **Zhou J, Chng WJ** (2013) Roles of thioredoxin binding protein (TXNIP) in oxidative stress, apoptosis and cancer *Mitochondrion* 13 :163-169

**El autor es investigador de CONICET**

**Química Viva**

ISSN 1666-7948

[www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar](http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar)

Revista Química Viva

Volumen 14, Número 2, Agosto de 2015

ID artículo: F0226

DOI: no disponible

[Versión online](#)