



LA FRUCTOSA-1,6-BISFOSFATASA COMO MODELO DIDÁCTICO PARA LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA.

Autores:

Jorge Eduardo, Abreu Ugarte¹, María Antonia, Cruz García².

¹ Especialista de 2do Grado Histología, Departamento Ciencias Biomédicas, Profesor Consultante, Universidad de Ciencias Médicas de las FAR. La Habana, Cuba. jabreu@infomed.sld.cu

² Especialista de 2do Grado Embriología, Departamento de Embriología, Profesora Auxiliar, Universidad de Ciencias Médicas de La Habana, Cuba. macruz@infomed.sld.cu

Resumen

Introducción: En la asignatura Metabolismo y Nutrición, la gluconeogénesis es un proceso que genera interés en los alumnos en el tema metabolismo de la glucosa, por la importancia que tiene en la regulación de la homeostasis. Sin embargo, los rodeos metabólicos y los enzimas que participan generan dudas, especialmente los mecanismos catalíticos a nivel molecular y el control de las enzimas involucradas.

Objetivo: Explicar las características estructurales y funcionales de la enzima fructosa-1,6-bisfosfatasa como modelo didáctico en la asignatura Biología Molecular, para la integración y vinculación básico - clínica.

Materiales y métodos: Se realizó una revisión bibliográfica del tema en las fuentes informáticas: Infomed, Scielo, Dialnet, MedlinePlus, Google Académico. Se empleó el método analítico - sintético.

Resultados y discusión: En la vía glucolítica hay reacciones catalizadas por enzimas reversible, sin embargo algunas reacciones no pueden revertirse. En el presente trabajo se presenta la enzima fructosa-1,6-bisfosfatasa como un modelo didáctico para la asignatura Metabolismo y Nutrición, útil para facilitar el proceso de enseñanza aprendizaje y la interdisciplinariedad.

Conclusiones: Se recomienda emplear la enzima fructosa-1,6-bisfosfatasa como modelo en la asignatura Biología Molecular en las carreras de medicina y estomatología, para la motivación y vinculación básico - clínica.

Palabras clave: fructosa-1,6-bisfosfatasa; gluconeogénesis; enzimas.

Introducción.

Los glúcidos constituyen la principal fuente de energía para el organismo humano. El principal glúcido de la dieta es el almidón y la glucosa es el producto final de la degradación en el sistema digestivo por la acción de las enzima amilasa (salival y pancreática) y las disacaridasas, éstas últimas presentes en el glucocalix de las células epiteliales de la mucosa intestinal. En menor medida, otros monosacáridos como la galactosa y la fructosa, provienen de la digestión de los disacaridos lactosa y sacarosa, que también forma parte de la dieta del humano.

En las células del organismo humano, la vía glucolítica es la principal forma de degradación de la glucosa. Por medio de la glucólisis, la glucosa es degradada hasta CO_2 y H_2O para obtener energía en forma de ATP, en condiciones aerobia. En condición anaerobia, se produce ácido láctico, que es reconvertido en glucosa en el hígado por la gluconeogénesis.

En la vía glucolítica hay un grupo de reacciones catalizadas por enzimas reversibles, que regulan su actividad catalítica por las concentraciones de los productos y sustratos. Sin embargo, algunas reacciones no pueden revertirse. Es decir, la síntesis de glucosa en la gluconeogénesis, a partir de precursores no glucosídicos, utiliza las enzimas reversibles de la vía glucolítica, pero las enzimas irreversibles son sustituidas por reacciones diferentes, en las que participan otras enzimas.¹

Estas reacciones constituyen los rodeos metabólicos en la gluconeogénesis. La intensidad de la glucólisis o de la gluconeogénesis depende de las condiciones metabólicas del organismo y responde a los mecanismos de regulación de las enzimas, alostéricos y covalentes, así como la acción de hormonas como insulina, glucagón, glucocorticoides y catecolaminas.

En la asignatura Metabolismo y Nutrición, en el metabolismo de la glucosa la gluconeogénesis es un proceso que genera interés en los alumnos, por la importancia que tiene en la homeostasis. Por tal motivo, en la gluconeogénesis, los rodeos metabólicos, los mecanismos catalíticos y de control de las enzimas involucradas requieren especial atención por el docente. Por otro lado, los alumnos se motivan por la relación que tiene este proceso con los errores congénitos del metabolismo y los trastornos hereditarios de la infancia causados generalmente por mutaciones recesivas monogénicas en enzimas que metabolizan los nutrientes de la dieta.

Lo expuesto justifica la necesidad de ampliar los conocimientos sobre la gluconeogénesis y la enzima fructosa-1,6- bisfosfatasa, que cataliza una reacción importante de los denominados rodeos metabólico y regula el proceso de formación de glucosa a partir de compuestos no glucídicos. De hecho, se propone la enzima fructosa-1,6-bisfosfatasa como un modelo didáctico para el estudio de la actividad enzimática: centro activo, actividad catalítica y la regulación de su actividad. Además, este modelo didáctico es útil para la integración con otras asignaturas clínicas y de la disciplina "Bases Biológicas de la Medicina", así es referencia también a la enfermedad molecular causada por la deficiencia congénita de la enzima.

Objetivo.

Explicar las características estructurales y funcionales de la enzima fructosa-1,6-bisfosfatasa como un modelo didáctico propuesto en la asignatura Biología Molecular, para la integración y vinculación básico - clínica.

Materiales y métodos.

Se realizó una revisión bibliográfica del tema en las siguientes fuentes informáticas: Infomed, Scielo, Dialnet, MedlinePlus, Google Académico. Se empleó el método analítico - sintético.

Resultados y discusión.

Las células de algunos órganos para obtener energía requieren un aporte continuo de glucosa. En el período de ayuno, la glucogenólisis moviliza glucosa a partir de la reserva celular de glucógeno. En las células musculares, la glucosa así obtenida es utilizada para suplir las propias necesidades energéticas de la actividad contractil. En las células hepáticas (hepatocitos), la glucosa puede salir de las células para regular los niveles de glucemia, que es la concentración de glucosa en la sangre.

Las células de algunos tejidos requieren un aporte continuo de glucosa, especialmente las neuronas de la corteza cerebral. Por la intensa actividad metabólica que realizan son muy sensibles a la falta de glucosa, como puede ocurrir en los estados de hipoglucemia. En los ayunos prolongados, a los que se añada una actividad física que demande mayor cantidad de energía, la glucogenólisis no puede mantener los niveles de concentración de glucosa en la sangre y no logra la homeostasis del organismo. Este proceso satisface las necesidades de glucosa por un periodo de 8 hasta 18 horas.

En este estado, la gluconeogénesis puede añadir glucosa a la sangre.¹ Esta es una vía metabólica anabólica que ocurre fundamentalmente en los hepatocitos que produce la biosíntesis de glucosa a partir de compuestos no glucídicos, como aminoácidos glucogénicos, el glicerol, el ácido láctico y el ácido pirúvico, metabolitos intermediarios del ciclo de Krebs y ácidos grasos de cadena impar, estos últimos por un metabolito intermediario de ciclo de Kress, succinil-CoA.

Este proceso ocurre en los hepatocitos y utiliza las enzimas reversibles de la vía glucolítica, excepto tres enzimas que catalizan reacciones no reversibles. En la tabla 1 se muestran las enzimas correspondientes a la vía glucolítica, el sustrato y producto que corresponde a cada una, así como la enzima que cataliza la reacción del rodeo metabólico que le corresponde en la gluconeogénesis.

El primer rodeo metabólico incluye dos pasos. El primero es la reacción del piruvato y el dióxido de carbono para producir oxalacetato, esta es una reacción catalizada por la enzima piruvato carboxilasa que se encuentra en las mitocondrias.

Tabla 1. Pasos irreversibles en la glucólisis y los rodeos metabólicos de la gluconeogénesis.

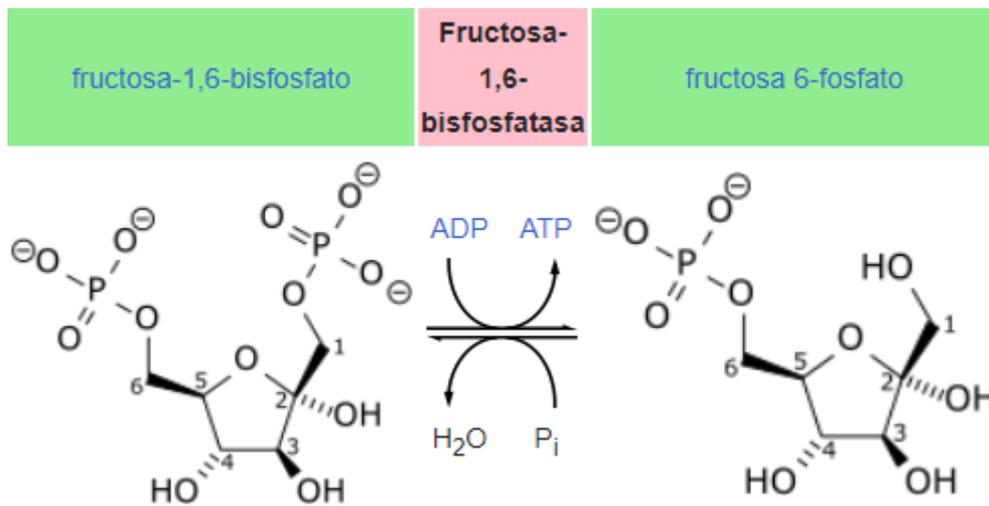
Enzima (Vía glucolítica)	Sustrato	Producto	Enzima (Vía gluconeogénica)	Rodeo
No hay	Fosfoenolpiruvato	Oxalacetato	Fosfoenolpiruvato carboxiquina	1er
Fosfofrutoquinasa 1	Fructosa-6-(P)	Fructosa-1,6-bisfosfato	Fructosa-1,6- bisfosfatasa 1	2do
Hexoquinasa	Glucosa	Glucosa-6-(P)	Glucosa-6-fosfatasa	3ro

Fuente: Cardella, Hernández, Pita. Metabolismo y Nutrición, Editorial de Ciencias Médicas. La Habana, 2018.

Esta es una enzima que tiene regulación alostérica y la acetil-CoA en un efector alostérico positivo. Cuando hay alto nivel de acetil-CoA, que es un producto de la glucólisis en condiciones aeróbicas, la enzima piruvato carboxilasa es activada y se produce oxalacetato, que entra como producto en el segundo paso, catalizado por la enzima fosfoenolpiruvato carboxiquina para producir fosfoenolpiruvato a partir del oxalacetato.

El segundo rodeo metabólico es catalizado por la enzima fructosa-1,6-bisfosfatasa 1, una biomolécula que es el objeto de atención en este trabajo. Como se muestra en la figura 1, esta enzima cataliza el segundo rodeo metabólico de la gluconeogénesis.

Figura 1. Reacción catalizada por la enzima fructosa-1,6-bisfosfatasa.



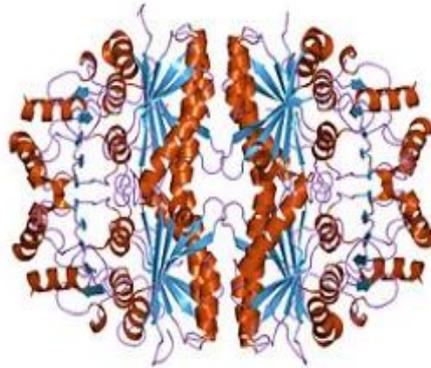
Fuente: Lehninger. Principios de Bioquímica Ed.7º. 2019

El sustrato es la fructosa-1,6-bisfosfato y el producto la fructosa-6-(P). Esta enzima requiere iones Mg²⁺ y Mn²⁺ como co-factores y es regulada de modo alostérico. Tiene como efector alostérico positivo el citrato y el ATP, a su vez es inhibida por el AMP, la fructosa-2,6-bisfosfato y el Li⁺. El efecto inhibitor del AMP se relaciona con el estado energético de las células, cuando es bajo, aumenta el nivel de AMP y su acción inhibitoria.

En la figura 2 se muestra una representación de la estructura tridimensional de la molécula, que se puede utilizar para consolidar los conocimientos sobre los niveles estructurales de las proteínas y la importancia de la conformación tridimensional para la actividad catalítica de la enzima. Esta

enzima es una proteína de 362 aminoácidos, codificada por el gen FBP1 localizado en el brazo largo del cromosoma 9 (6q22.3).²

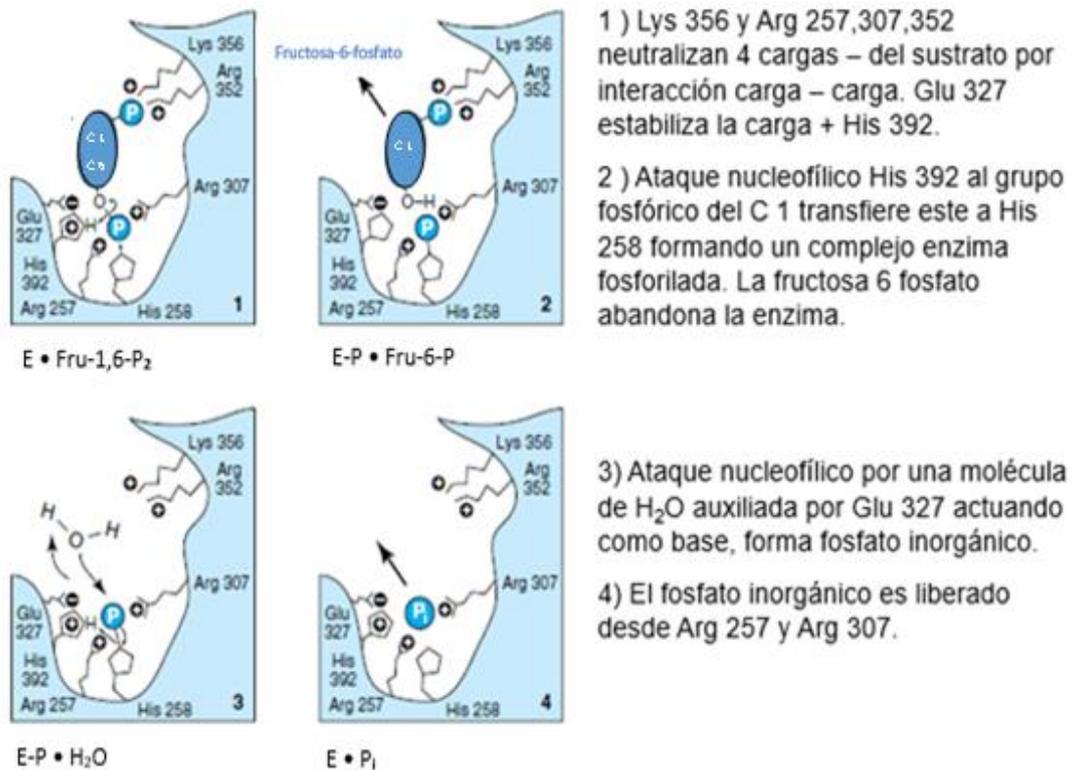
Figura 3. Estructura molecular de la enzima fructosa-1,6-bisfosfatasa 1.



Fuente: Lehninger. Principios de Bioquímica Ed.7º. 2019

La figura 3 presenta el modelo molecular propuesto de la actividad catalítica de la enzima. Se destaca el centro activo y los grupos que lo forman, que son las cadenas R de aminoácidos específicos en el eje peptídico. Es un modelo didáctico para explicar la actividad catalítica de la enzima, con detalles de la función de los grupos que forman el centro activo.

Figura 3. Modelo de la actividad catalítica de la enzima fructosa-1,6-bisfosfatasa 1.



Fuente: Lehninger. Principios de Bioquímica Ed.7º. 2019

El modelo describe en 4 pasos la acción de la enzima fructosa-1,6-bisfosfatasa. Comienza con la acción de los grupos de reconocimiento y fijación en los pasos 1 y 2. El paso 3 corresponde a la acción de los grupos de ambientación, con participación de la molécula de H₂O, necesaria para la actividad hidrolítica de los grupos catalíticos de la enzima, como se observa en los pasos 3 y 4. Se destaca el ataque nucleofílico favorecido por los grupos catalíticos, con la desestabilización de los electrones presentes en los orbitales que forman el enlace covalente y la consecuente ruptura con la liberación del fosfato inorgánico que queda unido covalentemente a la enzima (E • P_i) y la liberación de molécula fructosa-6-P.

Este es un modelo didáctico que permite consolidar los contenidos:

- Los mecanismos involucrados en la actividad enzimática.
- La formación del complejo enzima – sustrato (E•Fru-1,6-P₂).
- La cinética enzimática y la energía de activación.
- La clasificación de las enzimas según la función que realiza.
- El mecanismo de regulación alostérica.
- La acción del glucagón y otras hormonas con efectos hiperglucimiantes.

La fructosa-1,6-bisfosfatasa 1 es una enzima hidrolítica, que utiliza una molécula de H₂O para separar el grupo fosfato (P_i) del carbono 1, quedando la enzima fosforilada y la fructosa-6-P libre para la siguiente reacción.

Por otro lado, el modelo propicia la vinculación básico - clínica, como modo de aplicar la interdisciplinariedad. La deficiencia de la actividad de la enzima fructosa-1,6-bisfosfatasa 1 causa una enfermedad molecular que origina un desorden metabólico, descrito por primera vez en 1970 en una niña de 5 años y medio, con cuadros de hipoglicemia y acidosis metabólica desde los 6 meses de edad.^{3,4}

Los recién nacidos con deficiencia de la enzima fructosa-1,6-bisfosfatasa 1, presentan un bloqueo de la gluconeogénesis a partir de los aminoácidos, el lactato y el glicerol. El hígado puede aportar glucosa a la sangre mientras exista glucógeno en las vacuolas de los hepatocitos, cuando se agota la reserva, en un corto período de tiempo se produce hipoglicemia, que no responde a la acción de la hormona glucagón.

La hipoglicemia conduce al aumento en la lipólisis, que lleva a cetosis, además existe un acúmulo de alanina y parte de las triosas fosfato, que se convierten a lactato, que provoca agravamiento de la cetosis, acidosis metabólica severa e hipoglicemia en ayuno prolongado.^{5,6,7} Pueden presentar también hipoglicemia postprandial, por metabolitos acumulados como consecuencia del bloqueo que inhiben la gluconeogénesis.⁸

La deficiencia de fructosa-1,6-bisfosfatasa 1 es un defecto metabólico congénito poco común que afecta la gluconeogénesis. Es una enfermedad genética autosómica recesiva. El paciente se presenta con hipoglucemia en ayunas y acidosis metabólica. Además, puede tener hiperventilación, apnea y cetosis. La enfermedad puede ser fatal en el período neonatal, el diagnóstico y tratamiento adecuado llevan a un pronóstico favorable.

La mayoría de los pacientes con deficiencia de fructosa-1,6,-bisfosfatasa 1 se diagnostican antes de los seis meses de edad, es rara su presentación en la edad adulta. El diagnóstico se establece por las manifestaciones clínicas y metabólicas sugestivas, junto con pruebas moleculares en biopsias de hígado que establecen la deficiencia de fructosa-1,6-bisfosfatasa 1.⁹

De este modo, el modelo propuesto permite hacer referencia a otras técnicas moleculares para la determinación de la actividad de la enzima fructosa-1,6-bisfosfatasa 1 en leucocitos aislados de sangre periférica.¹⁰ Además, por técnica de PCR se puede identificar las mutaciones de los exones del gen FBP1 y realizar la secuenciación de los nucleótidos.² Esta es una enzima importante en el proceso de la gluconeogénesis, su deficiencia es de causa congénita de origen primario, autosómico y recesivo.¹¹ Se manifiesta principalmente por desorden metabólico con hipoglicemia y acidosis metabólica.¹

Conclusiones.

La enzima fructosa-1,6-bisfosfatasa es un modelo didáctico para la actividad enzimática en el metabolismo celular, útil para la interdisciplinariedad y la vinculación básico - clínica. Se recomienda su empleo en la asignatura Biología Molecular en las carreras de medicina y estomatología, para motivar a los estudiantes por la investigación científica en el campo de la biomedicina y desarrollar las habilidades cognitivas en el proceso de enseñanza - aprendizaje.

Bibliografía.

1. Orozco Quesada KS. Determinación de la actividad de la fructosa 1,6 difosfatasa en leucocitos. Rev. méd. Hosp. Nac. Niños (Costa Rica). 1995 [citado 16/05/2023]; 30(1-2): 9-18. Disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85461995000100002&lng=en
2. el-Maghrabi MR, Lange AJ, Jiang W, Yamagata K, Stoffel M, Takeda J, et al. Human fructose-1,6-bisphosphatase gene (FBP1): exon-intron organization, localization to chromosome bands 9q22.2-q22.3, and mutation screening in subjects with fructose-1,6-bisphosphatase deficiency. Genomics. 1995 [citado 16/05/2023]; 27(3): 520-525. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7558035/>
3. Shin YS. Diagnosis of fructose-1,6-diphosphatase deficiency using leukocytes; enzyme activity in three female patients. Clin. Invest. 1993 [citado 16/05/2023]; 71(2): 115-118. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8384909/>
4. Baker L. et Winegrad A. Fasting hypoglycaemia and metabolic acidosis associated with deficiency of hepatic fructose 1,6 Diphosphatase activity. Lancet. 1970 [citado 16/05/2023]; 2(7662): 13-16. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4193749/>

5. Salih RM, Mohammed EA, Alhashem AM, Mohamed S, Al-Aqeel AI. Fructose-1,6-bisphosphatase deficiency with confirmed molecular diagnosis. An important cause of hypoglycemia in children. Saudi Med J. 2020 [citado 16/05/2023]; 41(2): 199-202. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32020156/>
6. Hommes FA, Campbell R, Steinhart C, Roesel RA, Bowyer F. Biochemical observations on a case of hepatic fructose-1,6-diphosphatase deficiency. J Inherit Metab Dis. 1985 [citado 16/05/2023]; 8(4):169-173. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3023747/>
7. Mizunuma H, Tashima Y. Mouse thymoma cell line expresses a gluconeogenic enzyme, fructose 1,6-bisphosphatase. Biochem Biophys Res Commun. 1989 [citado 16/05/2023]; 158(3): 929-935. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2537640/>
8. Kodama H, Okabe I, Gunji Y, Yanagisawa M. Neonatal hyperlactacidemia and hypoglycemia caused by delayed maturation of fructose-1,6-diphosphatase activity. J Pediatr. 1988 [citado 16/05/2023]; 113(5): 898-900. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2846809/>
9. Theran Leon JS; Esteban Badillo LY; Dulcey Sarmiento LA; Reina Mejia SD. Déficit de Fructosa -1,6 Bisfosfatasa: Causa de Hipoglicemia Severa en Adultos Jóvenes. Gac Med Bol. 2021 [citado 16/05/2023]; 45(1): 79-81. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=841336>
10. Gorce M, Lebigot E, Arion A, Brassier A, Cano A, De Lonlay P, et al. Fructose-1,6-bisphosphatase deficiency causes fatty liver disease and requires long-term hepatic follow-up. J Inherit Metab Dis. 2022 [citado 16/05/2023]; 45(2): 215-222. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34687058/>
11. Lu J-R, Wang C, Shao L-P. A Chinese Adult Patient with Fructose 1,6-bisphosphatase Deficiency. Chinese Medical Journal. 2017 [citado 16/05/2023]; 130(16): 2009-2010. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28776561/>