



Artículo realizado por
Raquel Vilar Atanasio

¿ATP-SINTASAS ECTÓPICAS?

El dogma sobre el complejo de la ATP-sintasa que siempre había existido, era que dicho complejo, en células animales, se encontraba en la membrana interna de la mitocondria. Durante la última década se han realizado estudios que vienen a romper este dogma. Estos estudios muestran que existe una ATP-sintasa ectópica en células normales como las endoteliales, hepatocitos o adipocitos, así como también en células tumorales, cuya función en la membrana plasmática aún no está del todo clara.

Palabras clave: ATP sintasa, membrana plasmática, cáncer, homeostasis

La ATP-sintasa F_0F_1 es un complejo enzimático que se encuentra en el cloroplasto y en la mitocondria y es responsable de la síntesis de ATP a partir de ADP y fosfato inorgánico (P_i) conducidos por un gradiente de protones electroquímico. Está compuesto por tres partes: el sector catalítico F_1 , que consiste en 5 subunidades con la siguiente estequiometría: 3α , 3β , γ , δ , ϵ ; el translocador de protones (F_0); y un conector entre F_1 y F_0 tal como se observa en la figura 1.

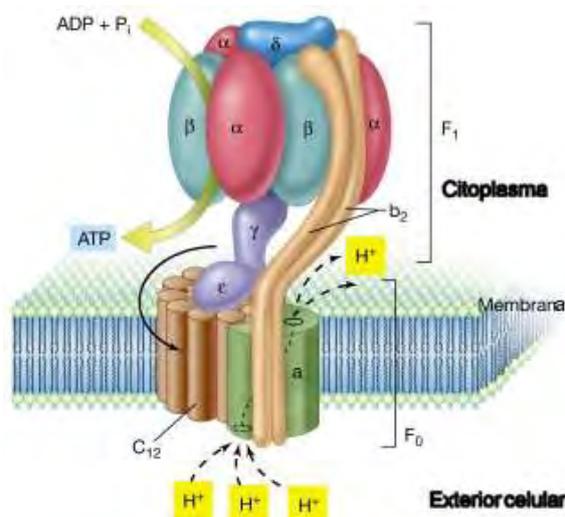


Figura 1: Estructura de la ATP sintasa.

Hasta ahora, este complejo se había encontrado en la mitocondria y en

cloroplastos, pero estudios realizados durante la última década han descubierto que dicho complejo también se encuentra de forma ectópica en la membrana plasmática de células tumorales y de células endoteliales, hepatocitos y adipocitos. Además, se ha visto que siempre se encuentra en caveolas (pequeñas invaginaciones) de la membrana plasmática. Incluso en las células donde se encuentra esta ATP-sintasa se ha observado actividad procedente de ecto-adenilato kinasas (AK) que catalizan la interconversión de adenín nucleótidos; y ecto-nucleósido difosfoquinasas (NDPK), que convierten el ATP a ADP, dando como resultado nucleósidos trifosfatos.

Al descubrir la forma ectópica de este complejo se cuestionó la posible presencia, actividad y composición de la F_0F_1 -ATP sintasa en células normales aisladas en la ausencia de suero añadido, y factores de crecimiento. En este caso eligieron hepatocitos recién aislados ya que no necesitaban de ninguna adición en el medio y además representan una herramienta apropiada al retener las características de las células *in vivo*. De esta forma los hepatocitos fueron elegidos por el papel

central del hígado en el metabolismo energético e intermediario. Usando diferentes técnicas, como microscopía confocal, citometría de flujo e inmunoblotting, se mostró la presencia de F_0F_1 -ATP sintetasa localizada en la parte externa de la membrana plasmática del hepatocito. Se ha visto que este complejo es capaz de catalizar tanto la síntesis de ATP, como la hidrólisis reversa de ATP. Las subunidades de F_1 y F_0 están presentes en la parte externa del hepatocito en los mismos ratios de estequiometría que en la membrana interna mitocondrial. Esto muestra que la enzima ectópica se corresponde en estructura y organización con la enzima mitocondrial. Los niveles inesperados del complejo en la membrana plasmática sugieren que la ATP sintetasa ectópica podría tener un papel significativo en la determinación del ratio ADP/ATP extracelular. Además se ha visto que la cadena β de la ATP sintasa, en dichas células, interacciona con la apolipoproteína A-1 (ApoA-1) cuya consecuencia es la inhibición de este complejo de ATP-sintasa. Parece ser que dicho complejo estaría hidrolizando ATP en los hepatocitos y al inhibirse esta hidrólisis por la unión de ApoA-1 daría lugar a la producción de ADP que es requerida a su vez para la endocitosis de las lipoproteínas de alta densidad y el colesterol.

Estos y otros experimentos han sugerido que la ATP sintetasa ectópica puede jugar un papel en el control de los cambios de pH producidos en condiciones como la regeneración del hígado, tumores, o la isquemia a través de la habilidad para generar flujos de protones en ambas direcciones durante la síntesis o hidrólisis de ATP, para así contribuir a la homeostasis del pH celular.

También se han encontrado subunidades F_0 -c de la ATP sintetasa localizada ectópicamente en la membrana plasmática

de células excitables (como las del miocardio, las neuronas cerebrales o las de la retina), formando poros de 10 componentes de F_0 -c y por los cuales se induce un transporte de Na^+ o Ca^{2+} . Este proceso es uno de los factores que producen la enfermedad de Batten o lipofuscinosis ceroides neuronal, una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por la proliferación de cuerpos de inclusión en el cerebro.

En otro de los estudios realizados se ha cuestionado la hipótesis de si la ATP-sintasa ectópica podría proceder de la translocación desde la mitocondria a la membrana. Para visualizar la localización y translocación de la ATP-sintasa se utilizó la subunidad ATP5B de dicho complejo. Se realizaron proteínas recombinantes con la subunidad unida a la GFP creando la proteína de fusión ATP5B-GFP y se introdujo en la línea celular del hepatocarcinoma HepG2, la cual expresa altos niveles de ATP-sintasa ectópica. Una vez visto que se podía medir la expresión de esta subunidad y que se podía localizar gracias a la GFP, se realizaron dos experimentos, primero se construyeron dos plásmidos, uno de ellos contenía la GFP unida a la ATP5B con el péptido señal de tránsito a la mitocondria (pATP5Bp-GFP) y el otro tenía la misma fusión pero sin el péptido señal (ATP5Bm-GFP). Entonces se transfectaron las células HepG2 con la construcción pATP5Bp-GFP (de tránsito a la mitocondria) y se realizó una inmunotinción con un anticuerpo anti-GFP rojo, para ver si había ATP-sintasas procedentes de estos plásmidos en la membrana. Efectivamente se comprobó que en el caso de la transfección con el plásmido que contenía el péptido señal sí existían ya que la prueba dio positivo. Las células que se transfectaron con la construcción pATP5Bm-GFP (sin el péptido señal) no dieron positivo, lo cual indica que con esta construcción no se

detectaban ATP-sintasas en la membrana. Cuando las células se permeabilizaron el patrón de GFP interno de la célula era distinto a cuando las células no estaban permeabilizadas. Esto sugiere que la proteína madura ATP5B (sin péptido señal) no puede translocarse a la membrana citoplasmática sola. Por tanto, parece ser que el péptido señal de mitocondria es esencial para la translocación a la membrana. Se cree que una vez las proteínas del complejo se encuentran en la mitocondria, el péptido señal es eliminado por peptidasas, entonces dicho complejo sería traslocado a la membrana celular. La ATP5B ectópica, por tanto, puede ser translocada desde la mitocondria a la membrana celular por mecanismos aún desconocidos. Algunas investigaciones informan que la mayoría de las proteínas que se localizan en la membrana interna de la mitocondria pueden ser encontradas en la superficie de la membrana celular dando lugar a la idea de que la traslocación es posible.

También se han hecho estudios para indentificar la posibilidad y especificidad de la ATP-sintasa ectópica para una posible terapia tumoral, en la que se midió la expresión de la ATP-sintasa ectópica en seis líneas celulares con diferentes malignidades, pero los resultados mostraron que la actividad de la síntesis de ATP es independiente del estado maligno de la célula, aunque fue significativamente regulada en condiciones tumorales. Se cree que la especificidad de la ATP-sintasa en tumores se basa en su actividad catalítica incrementada en microambientes ácidos e hipóxicos, para contrarrestar las desventajas de las condiciones isquémicas e hipóxicas a las que están sometidos los tejidos tumorales. Con la síntesis de ATP, los protones intracelulares serían propulsados al exterior de la célula para prevenir la acidosis.

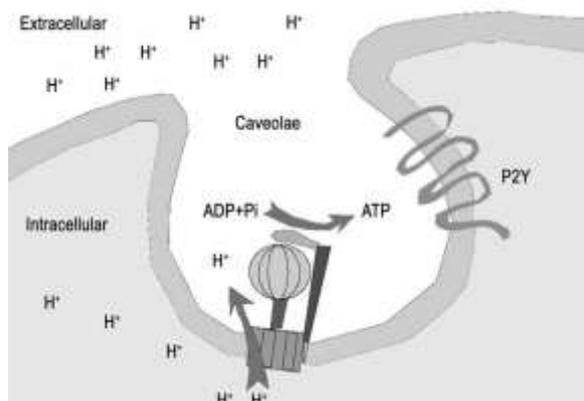


Figura 2: ATP-sintasa ectópica situada en una caveola de la membrana celular.

En esta línea otro de los artículos comenta que la presencia de la subunidad $F_1\beta$ de la F_1 -ATP sintasa en células tumorales induce la adhesión de los linfocitos citotóxicos, en un proceso independiente del complejo de histocompatibilidad, regulando la citotoxicidad y la lisis celular. También se ha visto que la subunidad $F_1\alpha$ localizada en la membrana plasmática de las células tumorales actúa como receptor de la citoquina p43 que induce, junto con el TNF, una respuesta inflamatoria y apoptosis, lo que ocasiona una inhibición de la proliferación de las células tumorales.

Para finalizar y a modo de resumen, podemos decir que el complejo de la ATP-sintasa puede ser translocado desde la membrana mitocondrial a la membrana plasmática por mecanismos aún desconocidos. El hecho de que la ATP-sintasa se transloque a la membrana, no es un hecho arbitrario sino que forma parte de una función en beneficio de la célula o del organismo, como en los casos de bajar la acidosis, impedir o inhibir la proliferación y la angiogénesis, o en el reconocimiento de respuestas inmunes hacia dichas células tumorales. Por otra parte en células no tumorales, como por ejemplo en los hepatocitos, interviene en la endocitosis de lipoproteínas y colesterol; en células como los adipocitos se cree que intervienen en generar ATP-extracelular para cumplir

funciones como regulador de receptores y como molécula de señalización; la angiostatina inhibe el crecimiento de células endoteliales al unirse a la subunidad $F_1\text{-}\alpha\beta$ del complejo ATP-sintasa, inhibiendo así la angiogénesis; por último en células de cordón umbilical humano, la inhibición de la síntesis de la ATP-sintasa ectópica da lugar a una inhibición en la proliferación, sugiriendo que los inhibidores de la síntesis de esta ATP sintasa podrían ser usados como fármacos anticancerígenos.

De todo lo anterior se comprueba que a medida que se van haciendo más descubrimientos en relación al complejo de la ATP-sintasa, nuevas funciones se le descubren. Esto es una muestra clara de que no siempre un complejo o una proteína está diseñada solo para una función, sino que la célula aprovecha una misma estructura para poder realizar diversas funciones dependiendo del momento, lugar, condiciones o el tipo celular que presente dicha estructura o complejo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lenin Domínguez-Ramírez, y Marietta Tuena de Gómez-Puyou.(2003). *Virtudes y pecados de una enzima: La F_0F_1 ATP sintasa.* Departamento de Genética Molecular. Laboratorio 105-Oriente, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México. pp 25-44.
2. Lenin Domínguez-Ramírez, y Marietta Tuena de Gómez-Puyou Virtudes.(2005). *La F_1F_0 ATP sintasa: un complejo proteico con gran versatilidad estructural y funcional.* Tip Revista Especializada en Ciencias Químico- Biológicas, Vol. 8,num. 001, Universidad Nacional Autónoma de México pp.18-27.
3. Roberto Mangiullo et all (2008). *Structural and functional characterization of F_0F_1 -ATP synthase on the extracellular surface of rat hepatocytes.* *Biochimica et Biophysica Acta* 1777 pp.1326–1335
4. Zhan Ma et all (2010). *Mitochondrial F_1F_0 -ATP synthase translocates to cell surface in hepatocytes and has high activity in tumor-like acidic and hypoxic environment.* *Acta Biochim Biophys Sin*, Vol 42,Issue 8, pp.530-537.