



## DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS

### PROGRAMA DE EXAMEN FINAL DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR

#### **Unidad 1: Introducción a la bioquímica y biología molecular. Fundamentos de Físico-química, química orgánica y termodinámica**

##### **Importancia de la Bioquímica y Biología Molecular para la Medicina.**

Utilidad del conocimiento de los procesos fisiológicos y fisiopatológicos a nivel molecular para el desarrollo de métodos diagnósticos, terapéuticos y preventivos.

##### **Fundamentos de Química General de importancia en Bioquímica.**

Átomos y estructura atómica: Generalidades sobre la estructura atómica: Masa y carga de partículas subatómicas: Núcleo (protones y neutrones), electrones. Propiedades de los elementos más comunes en Bioquímica: C, H, O, N, S, P, Cl, Na, K, Ca, Mg, Fe. Dimensiones atómicas: radio de van der Waals y radio covalente.

Uniones químicas, iones y moléculas: Concepto de configuración electrónica estable. Gases nobles y regla del octeto. Concepto de electronegatividad. Halógenos, metales y no metales. La unión iónica o salina. La unión covalente: Orbitales moleculares. Concepto de moléculas. Enlaces covalentes coordinados. Uniones covalentes múltiples. Polaridad de enlaces covalentes, concepto de dipolo eléctrico. Moléculas polares y no polares. Influencia de la geometría molecular. Interacciones dipolares. Puentes de Hidrógeno. Donores y aceptores de H. Interacciones de van der Waals. La interacción hidrofóbica.

Soluciones: Solventes apolares y solventes polares. Unidades de concentración de soluciones. Estructura del agua. Sus propiedades como solvente: solvatación y debilitamiento de interacciones iónicas y dipolares. Soluciones acuosas de electrolitos. Concepto de fuerza iónica y su influencia sobre las interacciones iónicas y dipolares. Ley de Coulomb.

##### **Fundamentos de Química Orgánica de importancia en Bioquímica:**

El carbono tetraédrico. Orbitales  $\sigma$ . La unión simple C-C. Esqueletos carbonados alifáticos, ramificados o cíclicos. Carbonos primarios, secundarios, terciarios o cuaternarios. Libre rotación en la unión C-C. Conceptos de isómeros y confómeros. Quiralidad y estereoisomería. Series configuracionales D y L. Conceptos de enantiómeros, diastereoisómeros y epímeros. Rotación óptica: Compuestos dextro y levorrotatorios. La unión doble C=C: Orbitales  $\pi$ . Propiedades geométricas (isomería cis/trans). Polarizabilidad. Reactividad: reducción e hidratación.

Estructura y propiedades (polaridad, capacidad de formar puente H, reactividad, etc.) de grupos funcionales de importancia en Bioquímica: Alquilo, metileno, hidroxilo (alcohólico y fenólico), carbonilo (ceto), aldehído, carboxilo, amino, imino, fosfato, sulfhidrilo, disulfuro, éter, ésteres carboxílicos, tioéster, fosfoéster y fosfodiéster, amida, hemiacetales y acetales. Isomería de posición e isomería de función. Tautomería. Resonancia.

##### **Fundamentos de la termodinámica del equilibrio aplicados a la bioquímica:**

Conceptos de energía y trabajo. Unidades. Diversas formas de energía y trabajo utilizadas o producidas por las células. El primer principio de la termodinámica. Conceptos de energía interna y entalpía. Procesos exotérmicos y endotérmicos. El segundo principio de la termodinámica. Concepto de entropía. Combinación del primer y segundo principios: Concepto de Energía libre ( $\Delta G$ ). Espontaneidad termodinámica de los procesos. Procesos exergónicos y endergónicos. Utilidad de  $\Delta G$  para predecir la espontaneidad de procesos y la energía útil convertible en trabajo. Influencia de la concentración de reactantes y productos sobre  $\Delta G$ . Energía libre en condiciones standard ( $\Delta G^\circ$ ). Las condiciones standard en bioquímica,  $G^\circ'$ . La constante de equilibrio ( $K_{eq}$ ) y su relación con  $\Delta G^\circ$ . Reversibilidad de reacciones químicas y otros procesos de importancia bioquímica. Utilidad de  $K_{eq}$  y métodos de estimación. Equilibrio de unión entre ligandos y/o macromoléculas: Ecuación de Scatchard y concepto de afinidad. Estimación de los



cambios entálpicos, entrópicos y de energía libre de procesos: Variación de  $K_{eq}$  con la temperatura, gráfica de van't Hoff. Propiedades aditivas de los parámetros termodinámicos. Aplicabilidad para la estimación de energías de enlaces, y entalpías, entropías o energía libre de formación de compuestos. Concepto de fuerza de enlace. Valores de energía libre de unión para enlaces covalentes e interacciones no covalentes. Contribuciones entálpicas y entrópicas de uniones covalentes e interacciones no covalentes. Concepto de oxido-reducción. Reacciones redox y su energética. Potencial redox. Relación entre  $\Delta G_o$  y diferencia de potencial redox. Gradientes químicos y electroquímicos como forma de almacenamiento energético y fuentes de energía libre. Acoplamiento entre procesos exergónicos y endergónicos (ejemplos de procesos exergónicos como fuente de energía libre para la realización de procesos endergónicos por la célula). La célula como un sistema alejado del equilibrio. Estrategias metabólicas y necesidad de diferentes caminos para anabolismo y catabolismo. Aplicaciones de la termodinámica en medicina nutricional.

Equilibrio ácido-base: Ionización del agua y su equilibrio. Conceptos de  $K_w$  y pH. Ácidos y bases. Disociación de ácidos y bases débiles. Constantes de ionización de ácidos y bases. Concepto de pK. Ecuación de Henderson-Hasselbalch. Curvas de titulación. Poder amortiguador (buffer). Anfolitos. Concepto de punto isoeléctico (pI).

## **Unidad 2: Estructura, propiedades y funciones generales de aminoácidos y proteínas**

El contenido y la calidad del componente proteico de una dieta constituyen uno de los problemas nutricionales más serios que afecta a la población mundial. Es importante, por consiguiente, conocer los aminoácidos que constituyen su base estructural así como la de péptidos de enorme importancia funcional. Asimismo, se debe establecer la relación entre la estructura de péptidos y proteínas con sus funciones biológicas y vincular la diversidad de funciones cumplidas por los aminoácidos y proteínas con sus propiedades químicas y físicas (racionalizar la función a partir de sus propiedades). Es importante que los estudiantes se familiaricen con los criterios básicos que permitan explicar la enorme diversidad de moléculas proteicas originadas a partir de unas pocas unidades de aminoácidos y aprendan a elaborar conductas predictivas sobre el rol biológico de una determinada estructura proteica.

### **Contenidos cubiertos en clases obligatorias**

Base estructural de las proteínas: los  $\alpha$ -L-aminoácidos. Estructura general de los aminoácidos proteicos. Clasificación según diferentes criterios (solubilidad, estructura química, polaridad, etc.). Aminoácidos no-proteicos: ejemplos y funciones biológicas. Propiedades ácido-base de los aminoácidos. El enlace peptídico: estructura primaria (secuencia) de péptidos y proteínas. Desnaturalización proteica, diferencia con precipitación reversible. Tipos de agentes desnaturalizantes.

Estructura molecular de las proteínas. Niveles de organización molecular. Secuencia o estructura primaria de péptidos y proteínas. Nivel secundario de organización estructural (descripción y características generales de los tipos de estructuras en relación a proteínas globulares y fibrilares). Niveles terciario y cuaternario de organización estructural (descripción y características generales en relación a las proteínas globulares). Fuerzas comprometidas en el mantenimiento de los diferentes niveles de organización estructural. Concepto de superestructuras moleculares.

Relación entre estructura molecular y función biológica. Efectos de la desnaturalización proteica. Posibles mecanismos de acción de agentes desnaturalizantes físicos y químicos. Relación entre estructura tridimensional y la actividad biológica. Discusión de la función *versus* la estructura a través de ejemplos específicos (transportadores, hormonas, enzimas, proteínas contráctiles, regulatorias, defensivas, y con propiedades osmóticas y buffers).

Análisis de aminoácidos y péptidos en el laboratorio clínico. Electroforesis de proteínas en humores biológicos: fundamentos de la metodología y aplicabilidad clínica de los resultados. Concepto de la cromatografía de aminoácidos en sangre u orina. Utilidad pronóstica y diagnóstica. Dosaje inmunoquímico de proteínas marcadoras: proteína-C-reactiva, anticuerpos, antígenos, indicadores de malignidad, etc. Determinación de proteínas con actividad enzimática, neu-



tralizante o inhibitoria, proteínas con acción defensiva, protectora, etc. Ejemplos de su aplicación en clínica.

Nociones sobre el rol de las proteínas en nutrición humana. Fuentes naturales de proteínas para alimentación humana. Aminoácidos esenciales: definición, requerimientos diarios. Desnutrición proteica y proteico-calórica (grados y consecuencias más importantes).

**Trabajo Práctico de Laboratorio:** Electroforesis de proteínas plasmáticas. Ensayos de denaturalización proteica.

### **Contenidos cubiertos en clases no obligatorias**

Aminoácidos no proteicos. Ejemplos e importancia de los mismos en el metabolismo normal y patológico.

Mecanismo de organización de la estructura tridimensional en prótidos. Teoría de la prueba y el error vs. teoría de los sub-dominios. Aplicaciones del gráfico de Ramachandran. Métodos de laboratorio para el estudio de la estructura espacial de las proteínas (difracción de rayos X, dicroísmo, mapeos electrónicos). Importancia de estos estudios en el diseño de drogas con propiedades terapéuticas.

Panorámica de los métodos empleados en la purificación de proteínas. Finalidades principales de la purificación de proteínas y péptidos (como fármacos, reactivos de laboratorio, elementos de diagnóstico o pronóstico). Precipitación selectiva. Diálisis. Cromatografías: tipos y fundamentos teóricos (intercambio iónico, exclusión molecular y afinidad). Las variantes de la electroforesis: soportes activos, inactivos, isoelectroenfoque e inmunoelectroforesis. Cuantificación de proteínas por inmunoelectroforesis y difusión radial cuantitativa. Ejemplos de su aplicación en clínica (isoelectroforegramas de LDH y CPK, lipidograma o electroforesis de lipoproteínas plasmáticas, inmunopatologías por deficiencia o por sobre-expresión: los mielomas).

Expresión de las proteínas: el proteoma y sus utilidades potenciales en medicina.

Anomalías estructurales de las proteínas y enfermedades humanas: priones (encefalitis degenerativas espongiiformes) y amiloideopatías (Parkinson, Alzheimer, trisomía del par 21). Cataratas y mutaciones conformacionales generadoras de atipias.

Las proteínas como reactivos en el laboratorio clínico: fundamentos, aplicaciones, ventajas y desventajas del RIA y del ELISA.

## **Unidad 3: Estructura y propiedades generales de glúcidos, nucleótidos y lípidos**

Además de los aminoácidos y proteínas que se vieron en la unidad anterior, los compuestos que se tratarán en esta unidad son componentes de enorme importancia para la célula en la que cumplen muy diversas funciones que se irán considerando en detalle en las próximas unidades. Los glúcidos son importantes componentes de la dieta, el único combustible utilizable por algunas células y el preferido por la mayoría de ellas. Algunas células pueden almacenarlos como reserva en forma polimerizadas. Además de su función energética, los glúcidos son componentes de los nucleótidos, de glicoproteínas y glicolípidos, cumpliendo en estos dos últimos funciones de reconocimiento o información. Los nucleótidos son las unidades constitutivas de los ácidos nucleicos (ADN y ARN), pero además tienen otras importantes funciones como transportadores de energía, coenzimas o moléculas señalizadoras. Los lípidos son un grupo estructuralmente heterogeneo de compuestos que se caracterizan por su baja hidrosolubilidad. Algunos, como los triacilglicéridos, constituyen otra importante fuente energética. Otros son constituyentes básicos de las membranas celulares y muchos lípidos tienen funciones señalizadoras o son precursores de moléculas señalizadoras.

En esta unidad se tratará la estructura de estos componentes básicos cuya participación en el metabolismo y funcionamiento celular será considerada a lo largo de todo el resto del curso.

**Glúcidos simples:** Estructura y propiedades de los monosacáridos. Aldosas y cetosas: propiedades químicas de las funciones alcohol, aldehído y cetona. Descripción de la estructura general. Configuración espacial: Series D y L, enantiómeros, epímeros. Representación en el plano. Aldosas y cetosas de importancia biológica. Triosas (gliceraldehído, dihiroxiacetona).



Pentosas (ribosa). Hexosas (glucosa, manosa, galactosa y fructosa). Formación de anillos hemiacetalicos en los monosacáridos. Representación de Hayworth. Formas furanósicas y piranósicas. Equilibrio entre forma abierta y formas cíclicas de las osas. El carbono anomérico. Mutarrotación. Poder reductor. Oxidación de la función aldehídica y función alcohol primario: ácidos aldónicos y urónicos. Aminoazúcares, fosfoazúcares y desoxiazúcares. Polialcoholes: glicerol, inositoles. Otros derivados de glúcidos de importancia bioquímica. Uniones glicosídicas. Glicósidos. Bloqueo del carbono anomérico y función aldehídica o cetónica. Disacáridos reductores y no reductores. Oligosacáridos. Homopolisacáridos: glucógeno, almidón, celulosa. Heteropolisacáridos. Glicoproteínas. Glúcidos dietarios.

**Nucleósidos y nucleótidos:** Estructura de bases púricas y pirimídicas. Adenina, guanina, citosina, uracilo, timina. Estructura de nucleósidos y nucleótidos. Nomenclatura. Nucleósidos mono-, di- y trifosfato. Ribonucleótidos y desoxiribonucleótidos. Ribonucleótidos cíclicos. Nicotinamida y riboflavina. Dinucleótidos. Coenzimas reductoras: NADH, NADPH, FMNH<sub>2</sub> y FADH<sub>2</sub>. Otros derivados nucleotídicos: Coenzima A. El enlace fosfodiéster. Oligonucleótidos y polinucleótidos. Poliribonucleótidos y polidesoxiribonucleótidos. Direccionalidad en los polinucleótidos.

**Lípidos:** Propiedades, importancia biológica y funciones. Ácidos grasos. Estructura. Nomenclatura. Ionización y neutralización. Ácidos grasos saturados e insaturados. Influencia de la longitud e insaturación de la cadena alquílica sobre sus propiedades físicas: solubilidad, punto de fusión. Familias de ácidos grasos. Ácidos grasos esenciales. Funciones de los ácidos grasos insaturados. Importancia de la calidad y cantidad de los lípidos de la dieta. Derivados eicosanoides.

Reacciones de esterificación de ácidos grasos. Ceras. Acilglicéridos. Importancia de triacilglicéridos como lípidos de reserva energética. Lípidos complejos: Fosfoglicéridos: Fosfatidilcolinas, Fosfatidiletanolaminas, Fosfatidilserinas, Fosfatidilinositoles, Cardiolipinas, otros. Gliceroléster fosfolípidos. Plasmalógenos. Ceramidas. Esfingol. Esfingofosfolípidos y esfingoglicolípidos. Gangliósidos. Esteroides: Colesterol, ésteres de colesterol. Ácidos biliares. Vitamina D. Hormonas esteroideas. Isprenoides: Coenzima Q o ubiquinona; dolicol; retinol, retinal y ácido retinoico; Vitamina K, Vitamina E o  $\alpha$ -tocoferol.

#### **Unidad 4: Enzimología**

Las funciones vitales de cada célula implican la existencia de una verdadera red de procesos o vías metabólicas consistentes en secuencias de reacciones bioquímicas cuyo conjunto constituye el metabolismo celular. Esas rutas bioquímicas se llevan a cabo con la ayuda de una serie de catalizadores orgánicos denominados enzimas. Si estas reacciones tuvieran que realizarse en ausencia de dichos catalizadores, las velocidades a las que ocurrirían serían tan bajas que no se podrían satisfacer las necesidades fisiológicas de las células. Otra ventaja de las enzimas es que pueden posibilitar una reacción endergónica por directo acoplamiento a un proceso exergónico.

Si bien el factor representado por la velocidad de reacción es de suma importancia, no lo es menos el hecho de que, por tener las distintas vías metabólicas que coexistir y funcionar en forma armoniosa y concertada, se requiere un estricto control e integración de los correspondientes sistemas multienzimáticos implicados. Precisamente, ello es posible gracias a la existencia de refinados sistemas de regulación enzimática que actúan de manera selectiva y de acuerdo a las necesidades de la célula en cada instante.

**Fundamentos de cinética química:** Concepto de velocidad de reacción. Unidades de medición. Estequiometría y orden de reacciones. Gráficos de concentración de reactantes y productos en función del tiempo, y de velocidad en función de concentración de reactantes para reacciones de orden cero, primer y segundo orden. Concepto de velocidad inicial. Constantes de velocidad (k), conceptos y unidades. Reacciones que involucran más de un reactivo: simplificación a reacciones de pseudo primer orden. Reacciones consecutivas: Concepto de estado



estacionario. Reacciones reversibles: Relación entre la  $K_{eq}$  y las constantes de velocidad de las reacciones en ambas direcciones. Concepto del estado de transición y energía libre de activación ( $\Delta G^*$ ). Relación entre constantes de velocidad y  $\Delta G^*$ . Influencia de la temperatura sobre la velocidad de reacción: estimación de  $\Delta G^*$ . Concepto de catálisis y catalizadores. Efecto de la catálisis sobre velocidad, equilibrio,  $\Delta G$  y  $\Delta G^*$  de la reacción.

**Propiedades generales de enzimas:** Diferentes tipos de enzimas. Importancia de las enzimas en el metabolismo, acoplamiento energético y fisiología celular: biosíntesis anabólica, degradación catabólica, generación y utilización de gradientes, transducción de señales, edificación de estructuras celulares, producción de trabajo mecánico, etc. Características químicas, estructurales y funcionales. Proteozimas y ribozimas. Mecanismos de la catálisis enzimática. Estabilización del estado de transición. Sitios catalíticos: conformación y especificidad. Interacciones involucradas en la formación del complejo enzima-sustrato. Modelo del ajuste inducido. Coenzimas: cofactores y grupos prostéticos. Coenzimas catalíticas y estequiométricas (cosustratos). Naturaleza química de coenzimas, ejemplos. Vitaminas como componentes de coenzimas. Rol de iones inorgánicos en la actividad de enzimas, su importancia como oligoelementos y micronutrientes en la dieta. Clasificación internacional de enzimas: ejemplos. Recursos catalíticos de enzimas: ejemplos y aplicaciones. Mecanismo de Serin-proteasas, triada catalítica. Mecanismo de aspartilproteasas retrovirales, aplicación en medicina.

**Conceptos de cinética enzimática:** Enzimas de cinética hiperbólica. Ecuación de Michaelis-Menten. Condiciones asumidas en su derivación (estado estacionario y exceso de sustrato). Velocidad máxima y  $K_m$ : Significado, utilidades y unidades. Linealización de la ecuación de Michaelis-Menten y sus ventajas comparativas.  $K_{cat}$  y número de recambio, concepto de perfección catalítica. Reacciones multisustrato: modelos de reacciones bisustrato. Cuantificación de enzimas. Unidades de actividad enzimática. Actividad específica. Métodos de medición de actividad de enzimas. Nociones de espectrofotometría, ley de Lambert-Beer: ejemplos de su utilización en ensayos cinéticos. Factores que modifican la actividad enzimática: temperatura, pH, concentración de proteína, tiempo, etc. Cinética de complejos multienzimáticos. Ejemplo: mecanismo del complejo piruvato-deshidrogenasa.

**Mecanismos de regulación de la actividad enzimática:** Inhibidores de la actividad enzimática. Clasificación. Inhibición irreversible, competitiva y no competitiva: Diferenciación cinética. Ejemplos de aplicaciones farmacológicas. Enzimas reguladoras, importancia. Enzimas alostéricas: características estructurales y cinéticas. Concepto de sensibilidad enzimática. Cinética sigmoidea. Cooperatividad. Ecuación de Hill. Efectos alostéricos homo- y heterotrópicos. Subunidades regulatorias. Regulación por proteínas moduladoras. Modelos secuencial y concertado de interacción alostérica. Cinética sigmoidea en enzimas monoméricas: modelo de transición lenta en Hexoquinasa IV. Ejemplos de transición entre estados T y R: análisis cinético-estructural de aspartato transcarbamilasa. Regulación enzimática por modificación covalente reversible. Comparación con la regulación alostérica. Diferentes modificaciones covalentes de importancia regulatoria. Fosforilación: Proteínas quinasas y proteínas fosfatasa. Activación por clivaje proteolítico: Zimógenos. Importancia de la compartimentalización celular y la cooperación entre tejidos para la regulación e integración metabólica. Isoenzimas: concepto, ejemplos e importancia regulatoria.

**Importancia clínica de las enzimas:** Enzimas en el diagnóstico clínico. Determinación de enzimas como marcadores de patologías. Electroforegrama isoenzimático en el diagnóstico y pronóstico de enfermedades que afectan tejidos específicos. Enzimas utilizadas como agentes terapéuticos. Enzimas como reactivos de laboratorio. Enzimas inmovilizadas como reactivos de inmunoensayo (ELISA). Anticuerpos catalíticos (Abzimas): Ejemplos, aplicaciones, y potencialidades futuras.



## **UNIDAD 5: MEMBRANAS BIOLÓGICAS: ESTRUCTURA Y TRANSPORTE DE SUSTANCIAS A TRAVÉS DE MEMBRANAS.**

Las membranas celulares determinan los límites de la propia célula, de sus compartimentos y organoides. A través del control estricto de la permeación determinan activamente no solo la composición del espacio que incluyen, sino también su particular fisiología. Mediante el control de las sustancias que las atraviesan (sustratos metabólicos, cofactores, iones etc.) las membranas ejercen una influencia decisiva en los distintos pasos metabólicos. Una gran cantidad de enzimas son proteínas de membrana, lo que permite la organización de secuencias complejas de reacciones. La membrana plasmática en células eucarióticas también juega un importante papel en el reconocimiento célula-célula, en el reconocimiento y transducción de señales extracelulares, y en la locomoción celular. Esta unidad considera las propiedades de los lípidos de membrana y su capacidad de autoensamblarse en bicapas lipídicas, así como las características particulares de las proteínas de membrana. También se consideran los mecanismos básicos de transporte a través de membranas que determinan la permeabilidad selectiva a ciertas sustancias, así como la generación y utilización de gradientes químicos o electroquímicos. También se introducen aquí los mecanismos básicos de la fusión de membranas y su importancia para diferentes procesos celulares. La autoestructuración de otros agregados supramoleculares de lípidos y proteínas como las lipoproteínas plasmáticas también es considerada en esta unidad debido a que ella es determinada por el mismo tipo de interacciones no covalentes que determinan la estructura de las membranas.

**Lípidos de membranas:** Lípidos anfipáticos. Agregados supramoleculares de lípidos anfipáticos en agua: micelas y vesículas lamelares. Liposomas como transportadores de drogas. Concepto de cristales líquidos. Fases lamelares y no lamelares. Fuerzas estabilizantes e importancia de la geometría molecular. La bicapa lipídica. Modos de movilidad de los lípidos en la bicapa. Transiciones de fase. Importancia del tamaño y carga del grupo polar para las propiedades de membranas lipídicas. Importancia de la longitud e insaturación de las cadenas alquílicas. Ubicación del colesterol en las bicapas fosfolipídicas y su importancia para las propiedades de la membrana. Importancia de la fluidez de membrana en diversas patologías. Separación lateral de dominios en membranas lipídicas. Composición lipídica de membranas biológicas. Distribución asimétrica de lípidos. Curvatura de membranas y distribución asimétrica de los lípidos.

**Proteínas de membrana:** Clases y modos de anclaje. Proteínas integrales y periféricas. Hélices transmembranas: hélices hidrofóbicas y anfipáticas. Barriles beta transmembrana. Predicción de regiones transmembrana. Unión electrostática a dominios lipídicos negativos. Anclaje por unión covalente a lípidos. Proteínas anfitrópicas: ejemplos e importancia. Purificación de proteínas de membranas. Reconstitución de proteínas integrales en membranas artificiales. Sistemas modelo para el estudio de lípidos y proteínas de membranas.

**Membranas celulares:** Membrana plasmática y de diferentes compartimentos y organelas intracelulares. Métodos de aislamiento. Conceptos y mecanismos básicos de síntesis y tráfico de membranas celulares. Fusión de membranas: Importancia y mecanismos básicos. Importancia de las biomembranas para la fisiología celular: compartimentalización, permeabilidad selectiva, generación de gradientes, transducción de señales, catálisis en superficies. Modelos clásicos de biomembranas. El modelo del mosaico fluido y sus desviaciones. Restricciones a la libre difusión de lípidos y proteínas en membranas. Conceptos de microdominios y balsas lipídicas: importancia funcional. Interacciones de membranas con el citoesqueleto y la matriz extracelular. Importancia para la constitución de diferentes regiones o macrodominios en células polarizadas. Otros agregados supramoleculares de lípidos y proteínas. Lipoproteínas: estructura, y funciones básicas. Apolipoproteínas intercambiables y no intercambiables: similitud con proteínas anfitrópicas e integrales de membrana

**Conceptos básicos del transporte de sustancias a través de biomembranas:** Energética de gradientes químicos y electroquímicos: cambio de energía libre para el transporte de



compuestos neutros y cargados a través de membranas. Almacenamiento de energía en gradientes. Potencial de membrana. Permeabilidad de las bicapas lipídicas a iones, compuestos polares y no polares. Diferentes mecanismos de transporte. Difusión simple. Ejemplos de sustancias transportadas por simple difusión. Transporte catalizado: Difusión facilitada. Conceptos de canales, poros y transportadores, ejemplos y diferenciación cinética. Conceptos de transporte activo primario y secundario, mecanismos básicos y fuentes de energía utilizadas. Transporte de grupo. Ejemplos de enfermedades provocadas por alteración de los sistemas de transporte a través de membrana.

**Difusión facilitada por Canales y uniportadores:** Canales de reposo, permeabilidad selectiva y generación del potencial de membrana en células. Transporte regulado. Canales iónicos regulados por voltaje. Canales de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Ca}^{++}$  activados por voltaje. Mecanismos de selectividad, activación e inactivación: importancia en la transmisión del impulso nervioso. Canales iónicos activados por ligandos. Ejemplos: El receptor nicotínico de acetilcolina y canal de  $\text{Ca}^{++}$  de retículo endoplásmico activado por  $\text{IP}_3$ . Canales activados por interacción con otras proteínas: Receptor muscarínico de acetilcolina. Canales activados por cGMP: importancia en el proceso de visión. Transportadores pasivos. Uniportadores: Transportadores de glucosa (GLUT). Estructura, mecanismo, tipos y funciones. Mecanismo de regulación de GLUT4 por insulina en músculo. Transporte facilitado de agua: Aquaporinas. Distintos tipos y roles. Toxinas formadoras de poros. Antibióticos ionóforos: gramicidina, valinomicina.

**Cotransportadores y transporte activo secundario:** Simportadores y antiportadores (contratransportadores o intercambiadores). Ejemplos de sistemas de transporte activo impulsados por gradientes de  $\text{H}^+$  y  $\text{Na}^+$ . Mecanismo y función del simportador  $\text{Na}^+$ /glucosa en la absorción intestinal de glucosa. Captación celular de aminoácidos por cotransporte con  $\text{Na}^+$ . Intercambiador  $\text{Na}^+$ / $\text{Ca}^{++}$  de la membrana plasmática y su rol en mantener baja la concentración de  $\text{Ca}^{++}$  citosólica. Intercambiadores  $\text{Na}^+$ / $\text{H}^+$ ,  $\text{Na}^+$ - $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ , y  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ : rol en el mantenimiento del pH intracelular. Intercambiador de aniones de eritrocitos y su rol en el transporte de  $\text{CO}_2$  de los tejidos a los pulmones. Transportadores mitocondriales. La porina (o canal aniónico dependiente de voltaje, VDAC) de la membrana mitocondrial externa: Selectividad y propiedades. Porinas bacterianas. Intercambiadores aniónicos de la membrana mitocondrial interna: ATP/ADP, malato/fosfato, citrato/malato, OH-/piruvato, OH-/fosfato, aspartato/glutamato, alfaetoglutamato/malato.

**Transporte activo primario y transporte de sustancias lipofílicas:** Transporte activo primario impulsado por el transporte de electrones: Bombeo de protones por los complejos I, III y IV de la cadena respiratoria mitocondrial. Transporte activo impulsado por hidrólisis de ATP: ATPasas transportadoras. Bombas tipo P (fosforiladas reversiblemente): mecanismos y funciones. La  $\text{Na}^+$ / $\text{K}^+$  ATPasa de membrana plasmática.  $\text{Ca}^{++}$  ATPasas de membrana plasmática y retículo endoplásmico (sarcoplásmico).  $\text{H}^+$ / $\text{K}^+$  ATPasa en la acidificación del lumen estomacal. Bombas tipo V (vacuolares): rol en la acidificación de endosomas y lisosomas, y en la remodelación ósea. Bombas tipo F (factores energéticos) o ATP sintetasas. Superfamilia de transportadores ABC. El regulador de conductancia transmembrana de la fibrosis quística. Roles de transportadores ABC en la excreción de tóxicos y otros compuestos liposolubles (colesterol, ácidos biliares, glucuronato de bilirrubina), y en el mantenimiento de la asimetría de membranas (flipasas). Mecanismos de importación y exportación de lípidos por las células. Rol de transportadores ABC y simportadores con  $\text{Na}^+$  en la circulación enterohepática de lípidos biliares. Captación selectiva de ésteres de colesterol por el SRBI. Patologías asociadas a defectos en transportadores lipídicos.

**Nociones sobre otros mecanismos de transporte en membranas:** Transporte por translocación de grupo:  $\lambda$ -glutamil transpeptidasa y captación celular de aminoácidos. Captación de ácidos grasos por la mitocondria: rol de carnitina. Comunicación entre células: uniones en hendidura, su estructura básica, propiedades y funciones. Conceptos básicos sobre sistemas de transporte de proteínas a través de las membranas celulares: Traslocación co-traducciona al retículo endoplásmico, y post-traducciona a mitocondrias o peroxisomas. Transporte de proteí-



na y complejos ribonucleoproteicos a través de la envoltura nuclear: Estructura básica del poro nuclear y mecanismos básicos de selectividad de transporte. Fusión de membranas: Mecanismos básicos determinantes de la selectividad y conceptos básicos sobre mecanismos de transporte que dependen de fusión de membranas: tráfico vesicular, endo y exocitosis. Fusión de membranas en la infección viral: Ejemplos de mecanismos para virus influenza y HIV.

## **UNIDAD 6: BIOENERGETICA Y METABOLISMO OXIDATIVO**

Todas las células poseen un complejo sistema regulado de producción y utilización de la energía a través de reacciones bioquímicas. Se denomina "catabolismo" al conjunto de reacciones metabólicas involucradas en la generación de energía por degradación de combustibles ingeridos y/o almacenados, tales como glúcidos, lípidos o proteínas. Estas reacciones resultan de la conversión de moléculas complejas en moléculas simples con producción de energía almacenable o conservable. Estas reacciones requieren generalmente oxígeno y se aceleran durante los períodos de inanición o estrés.

La utilización de energía es imprescindible (y en muchos casos específica) para diversas funciones celulares, por ej. conducción del impulso nervioso, contracción muscular, crecimiento y división celular. Los pasos metabólicos involucrados en la biosíntesis de moléculas grandes y complejas a partir de precursores pequeños, comprenden el "anabolismo" y requieren consumo de energía. Estas reacciones se aceleran cuando existe energía disponible o durante los períodos de crecimiento o regeneración del material celular.

La energía se almacena en compuestos denominados "de alta energía" fácilmente utilizables por la célula cuando son requeridos. En esta unidad se tratan tres procesos fundamentales, íntimamente relacionados:

1. El Ciclo de Krebs o de los ácidos tricarbónicos: una secuencia cíclica de reacciones que oxida a los grupos acetilos (provenientes de la degradación de combustibles como glúcidos, lípidos y aminoácidos proteicos) quedando sus electrones en la forma de coenzimas reducidas
2. La Cadena Respiratoria: proceso en el que los electrones de estas coenzimas reducidas son transferidos al oxígeno y la energía liberada almacenada en la forma de un gradiente electroquímico
3. La Fosforilación Oxidativa: proceso que utiliza la energía de ese gradiente electroquímico para sintetizar ATP

La reducción incompleta del oxígeno en la cadena respiratoria y otros procesos genera especies altamente reactivas y muy tóxicas para el organismo. Este tema de gran importancia médica también es considerado en esta unidad

**Bioenergética:** Transformaciones energéticas en los seres vivos. Aparición del oxígeno y complejidad creciente de biotipos celulares. Organismos autótrofos y heterótrofos. Leyes que rigen las transformaciones energéticas. Su aplicación a seres vivos. Papel de las moléculas portadoras de alta energía, significación y utilidad bioquímica como unidades mediadoras de transformaciones energéticas. El acoplamiento energético posibilita los procesos endergónicas. El ATP como moneda de cambio energético en la célula. Razones bioquímicas del elevado potencial de transferencia del grupo fosfato. Energía libre de hidrólisis de otros compuestos fosforilados. Necesidades diarias energéticas y su vinculación con el reciclamiento de las moléculas de ATP. Potencial redox y energética en la transferencia de equivalentes de reducción del NADH, NADPH, FMNH<sub>2</sub> y FADH<sub>2</sub>. Otros compuestos ricos en energía: acetyl-CoA.

**Producción y utilización de acetyl-CoA:** Descarboxilación oxidativa del piruvato: Complejo enzimático, mecanismo, coenzimas intervinientes, y regulación. Otras fuentes de acetyl-CoA. Utilización de acetyl-CoA: Ciclo del ácido cítrico, implicancias relacionadas a la tercera fase del catabolismo. Análisis de las reacciones del ciclo: Intermediarios, enzimas y cofactores de las diferentes etapas. Mecanismo de la aconitasa: ejemplo de generación de un producto asimétrico a partir de un sustrato simétrico. Fosforilación a nivel de sustrato por succinil-CoA sintetasa. Reacciones anapleróticas alimentadoras del ciclo y su vinculación con vías anabólicas. Reac-



ciones irreversibles del ciclo y su importancia regulatoria. Regulación del ciclo por la carga energética y disponibilidad de coenzimas oxidadas (FAD y NAD<sup>+</sup>).

**Cadena de transporte de electrones mitocondrial:** Sistema de oxidación mitocondrial: Localización. Estructura y propiedades de transportadores de equivalentes reductores: NADH deshidrogenasa. Ubiquinona. Deshidrogenasas dependientes de flavinas (FMN o FAD). Citocromos a, b y c. Centros ferro-sulfurados. Organización en complejos y su topología. Mecanismos involucrados en el transporte electrónico: Ciclo Q. Complejo III. Complejo IV y su sitio de fijación del oxígeno. Mecanismos que reducen los productos de reducción incompleta del oxígeno. Bombeo de protones al espacio intermembrana por los complejos I, III y IV. Energía asociada al transporte electrónico y su conservación en la forma de gradiente protónico. Sistemas transportadores de electrones del retículo endoplásmico: funciones básicas.

**Fosforilación oxidativa:** Acoplamiento con la cadena de transporte de electrones y el gradiente de protónico. Estructura y funcionamiento de F<sub>1</sub>-F<sub>0</sub> ATP sintetasa. Catálisis rotacional, la ATP sintasa como un motor molecular transductor de energía. Modelo de cambio de unión a sustrato por cambios conformacionales de la subunidad β. Balance energético de la eficiencia de la ATP sintasa. Intercambiador de NTP-NDP en membrana mitocondrial interna. Control respiratorio por el aceptor de grupos fosforilos. Balance energético de la oxidación completa del grupo acetilo de acetyl-CoA. Hipoxia, inhibidores de la cadena respiratoria, desacoplantes de la fosforilación oxidativa e inhibidores de la fosforilación oxidativa. Importancia fisiológica y médica. Influencia sobre la velocidad del ciclo del ácido cítrico y otras vías oxidativas. Enfermedades con base en deficiencias de la fosforilación oxidativa.

**Especies reactivas del oxígeno y otros elementos:** Especies reactivas del oxígeno (ROS), nitrógeno (RNS), azufre y otros elementos. Generación endógena y fuentes exógenas. El oxígeno como bi-radical. Clasificación de los ROS y RNS. Reacciones de Fenton y de Haber-Weiss (variantes). Etapas en la propagación del daño por radicales libres. Biomarcadores de daño. Utilidad clínica. Sistemas de defensa antioxidante: componentes enzimáticos y no enzimáticos. Mecanismo de acción del ascorbato, glutatión, tocoferoles, retinoides, y otros antioxidantes de ocurrencia natural. Interacción entre los sistemas enzimáticos y no enzimáticos. Papel de los oligoelementos. Función centinela de la metionina. Vía de la glioxalasa. Efectos beneficiosos y nocivos de los radicales libres: quimioterapia, radioterapia, hiperoxia, glutatiónilación de proteínas, activación fagocítica en la infección, daño por isquemia-reperfusión y trasplante de órganos. Respuesta celular al estrés oxidativo. Rutas de necrosis y de apoptosis redox-dependientes. Radicales libres en la patología: enfermedades neurodegenerativas, diabetes, artritis reumatoidea, infecciones virales crónicas (Hep-B y HIV). Radicales libres y envejecimiento. El papel de los "scavengers" en la transformación maligna y en la regulación del ciclo celular.

## **UNIDAD 7: MECANISMOS DE TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES**

Las células pueden responder a diferentes señales físicas (luz en las responsables del sentido de la visión o al sonido en las responsables de la audición) y a una enorme variedad de señales químicas provenientes de otras células o tejidos (neurotransmisores, hormonas, factores de crecimiento, etc.) o del exterior (nutrientes, estímulos olfatorios, gustatorios, etc). La respuesta celular también puede ser muy variada dependiendo de la señal y del tipo celular. Un cambio en la actividad de una o varias proteínas (enzimas, canales o transportadores, proteínas motoras, etc), o en la expresión de un gen, pueden generar la activación o inhibición de una vía metabólica, la activación o detención del ciclo celular y la apoptosis, la transmisión del un impulso nervioso, la contracción de un músculo, etc. Esta gran variedad de señales y respuestas haría pensar en una amplia diversidad de mecanismos para la transducción de la misma en la respuesta celular. Sin embargo, la evolución ha seleccionado y perfeccionado sólo una serie limitada de cadenas de eventos que son capaces de generar la respuesta apropiada a cada estímulo en diferentes tipos celulares. En primer lugar, esto se debe a que tipos celula-



res diferentes expresan diferentes receptores (en general proteínas encargadas de reconocer específicamente la señal y desencadenar una cascada de eventos que generan la respuesta celular). Por otro lado, en el extremo final de la cadena de transducción se encuentran las maquinarias celulares responsables de generar las respuestas. Cada tipo celular presenta maquinarias efectoras específicas, de tal forma que las señales generadas en la cascada de transducción de dos o más estímulos, aún siendo idénticos, activa en cada estirpe celular una respuesta distinta. En esta unidad temática se abordarán los mecanismos más comunes que usan las células para transducir la señal en una respuesta específica.

Sistema endócrino. Hormonas autocrinas, paracrinas y endocrinas. Naturaleza química de las hormonas: esteroides, derivados de amino ácidos, derivados de ácidos grasos, péptidos y proteínas

Regulación hormonal del metabolismo. Tipos de acciones promovidas por hormonas: Acción sobre el transporte de membranas, modificación de la actividad enzimática, modificación de la síntesis de proteínas. Acciones de las principales hormonas: insulina, glucagón y adrenalina sobre el metabolismo de glúcidos, lípidos y proteínas.

Mecanismos de acción hormonal. Concepto de receptores y segundos mensajeros. Especificidad, amplificación e integración de señales. Desensibilización. Cuantificación de la interacción ligando-receptor: gráficos de Scatchard

Canales iónicos activados por voltaje y por ligandos. Neurotransmisores.

Receptores con actividad tirosina quinasa intrínseca. Estructura del receptor de insulina y factor de crecimiento epidérmico. Autofosforilación y fosforilación de IRS-1. Proteínas adaptadoras. Proteínas G monoméricas (Ras). Serina-treonina quinasas. Cascadas de proteínas quinasas. Señalización hacia el núcleo y regulación de la expresión génica. Vía de las MAP quinasas. Proteína quinasa B (PKB) y su activación por insulina: PI-3K y PDK1. Sustratos y acciones metabólicas de PKB: Fosforilación de GSK3 y regulación del metabolismo del glucógeno. Movilización de GLUT 4 a la membrana plasmática.

Receptores con actividad tirosina quinasa asociada. Citoquinas y sistema JAK-STAT

Receptores con actividad guanil ciclasa: Guanil ciclasas de membrana y citosólicas. Efectos del cGMP en diferentes tejidos. Señalización por NO. Proteína quinasa G. Fosfodiesterasa de cGMP. Utilidad farmacológica de inhibidores de fosfodiesterasa de cGMP

Receptores asociados a proteínas G heterotriméricas. Estructura de receptores serpentina. Receptor de glucagón y receptor  $\beta$ -adrenérgico. Proteínas G heterotriméricas: subunidades, características, actividad GTPasa intrínseca y ciclo funcional. Proteínas G activadoras e inhibidoras de adenilato ciclasa. Producción de cAMP por adenilato ciclasa. Proteína quinasa A (PKA) y su activación por c-AMP. Sustratos y efectos metabólicos de PKA: Regulación covalente de enzimas y de la expresión génica por PKA. Fosfodiesterasa de cAMP. Desensibilización del receptor. Otras hormonas que usan cAMP como segundo mensajero. Toxinas que interfieren con la transducción por proteínas G heterotriméricas: toxina colérica y de Bordetella pertussis.

Proteína Gq y activación de fosfolipasa C. IP3 y diacilglicerol como segundos mensajeros. Hormonas que activan fosfolipasa C. Proteínas quinasas C: isoformas, mecanismos de activación y efectos metabólicos. Calmodulina. Su rol en la respuesta al calcio. Ejemplos de enzimas reguladas por calcio/calmodulina. CAM quinasas.

Organización de los sistemas de transducción de señales. Importancia de los dominios lipídicos de membrana (rafts). Ensamble de los complejos proteicos de señalización. Dominios proteicos de reconocimiento de fosfotirosina, fosfoserina y fosfotreonina. Dominios proteicos de reconocimiento de fosfolípidos.

Transducción de la señal en la visión: Rodopsina y retinal. Transducina. Activación de fosfodiesterasa de cGMP. Canales iónicos dependientes de cGMP. Guanilato ciclasa y su dependencia del calcio. Amplificación y terminación de la señal. Receptores responsables de la visión en colores. Deficiencias genéticas asociadas

Transducción de señales en los sentidos del gusto y olfato: Diversidad de receptores. Proteínas G involucradas: Golf y Gustducina. Activación de adenilato ciclasa y canales iónicos involucrados.



## **UNIDAD 8: METABOLISMO DE GLUCIDOS**

Los glúcidos cumplen importantes funciones energéticas, estructurales y de información. La glucosa es uno de los combustibles principales del organismo y reviste especial importancia en células especializadas como las del sistema nervioso, glóbulos rojos, cristalino y retina. Debido a su necesidad en este tipo de células, existe una regulación coordinada que asegura un suministro continuo de este sustrato esencial. Es necesario comprender las vías metabólicas y los mecanismos de regulación que contribuyen tanto a la obtención de energía a partir de glucosa, como al mantenimiento de la glucemia. Sobre la base de los conocimientos del metabolismo normal de los glúcidos se pueden interpretar las consecuencias de las alteraciones que se producen en este metabolismo y que originan dos de las enfermedades metabólicas más comunes: la diabetes y la obesidad. Asimismo se puede comprender de qué manera el organismo se adecua a los estados de inanición, saciedad, trauma severo, stress y ansiedad.

### **Digestión, absorción intestinal y captación celular de glúcidos:**

**Digestión de glúcidos:** Enzimas que intervienen, características. Deficiencias genéticas de enzimas digestivas: Intolerancia a la lactosa. Absorción intestinal de monosacáridos. Transporte activo de glucosa por cotransporte con  $\text{Na}^+$ . La glucosa como el principal monosacárido utilizado en los seres vivos. Captación de glucosa por los tejidos. Transportadores pasivos de glucosa (GLUT). Diferentes isoformas, distribución tisular, propiedades cinéticas y regulatorias (afinidad por glucosa y activación por insulina).

**Fosforilación de glucosa:** Hexoquinasas. Diferentes isoformas: características de afinidad, especificidad y propiedades regulatorias. Importancia para la captación preferencial de glucosa por hígado o los tejidos dependiendo de la glucemia. Inhibición diferencial de hexoquinasa II muscular y hexoquinasa IV (glucoquinasa hepática) por glucosa-6-fosfato o fructosa-6-fosfato.

**Glucólisis anaeróbica:** Objetivos de la vía. Ubicación central de la vía glicolítica en el metabolismo. Fases de la vía glicolítica. Mecanismo: Reacciones de la vía, enzimas y cofactores intervinientes, etapas reversibles e irreversibles. Etapas consumidoras de ATP. Formación de fructosa-1,6 -difosfato y gliceraldehído-3 -fosfato. Etapas generadoras de ATP: Formación de 1,3-bisfosfoglicerato y piruvato. Estrategias regulatorias de la glucólisis.

**Destinos del piruvato en aerobiosis y anaerobiosis:** Fermentaciones, su importancia y condiciones metabólicas asociadas. Acetil-CoA, o lactato: destino del piruvato en diferentes condiciones y tejidos (hígado, eritrocito, músculo). Regeneración de NAD en anaerobiosis: rol de la lactato deshidrogenasa. Regeneración del NAD en aerobiosis: lanzaderas del malato y del glicerolfosfato, características, direccionalidad y rendimiento energético. Balance energético de la glicólisis aeróbica y anaeróbica.

**Gluconeogénesis:** Objetivos y significado fisiológico. Tejidos gluconeogénicos. Compartimentos celulares. Mecanismo. Rodeo de las reacciones irreversibles de la glicólisis. Síntesis de glucosa a partir de diferentes precursores.. Precursores de piruvato: Lactato, aminoácidos e intermediarios del ciclo de Krebs. Isoenzimas citosólicas o mitocondrial de fosfoenolpiruvato-carboxiquinasa. Ciclo de Cori y ciclo de la alanina, su importancia bioquímica-funcional. Gluconeogénesis a partir de glicerol. Costo energético de la gluconeogénesis a partir de lactato, alanina y glicerol.

**Regulación de glucólisis y gluconeogénesis:** Coordinación y regulación por variación de la actividad de enzimas pre-existentes, modificación de la concentración de enzimas o su compartimentalización celular. Regulación de glucólisis en hígado y músculo. Influencia de la carga energética. Efecto Pasteur y Crabtree. Regulación alostérica de fosfofructoquinasa I y piruvato quinasa. Regulación por citrato. Rol de la fructosa-2,6-bisfosfato. Su síntesis y degradación, diferencias organo-específicas y sus implicancias metabólicas. Regulación coordinada de glucólisis y gluconeogénesis en hígado. Efectos de adrenalina, glucagón e insulina: Rol de la fructosa-2,6-bisfosfato, diferencias regulatorias entre hígado y músculo, activación del ciclo de Cori por adrenalina. Regulación de la piruvato quinasa, piruvato carboxilasa y fosfoenolpiruvato carboxiquinasa, diferencias entre tejidos. Efecto de la insulina sobre las vías glicolítica y gluconeogénica.

**Vía de las pentosas fosfato:** Importancia metabólica. Objetivos de la vía y tejidos que la utilizan. Fase oxidativa y rama no oxidativa. Posibilidad de interconversión de azúcares de 3 a 7 carbonos y de oxidar completamente la glucosa a  $\text{CO}_2$ . Rama oxidativa: oxidación de glucosa-



6-fosfato a fosfopentosa. Producción de NADPH y ribosa-5-fosfato. Rama no oxidativa: interconversión entre fosfopentosas e intermediarios glicolíticos. Regulación de la vía. Diferentes modos de funcionamiento de la vía en relación a las necesidades metabólicas: Producción simultánea de NADPH y ribosa-5-fosfato. Producción exclusiva de NADPH. Producción exclusiva de ribosa-5-fosfato. Deficiencia genética de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa.

Metabolismo del glucógeno: Tejidos que almacenan glucógeno. Mecanismos de la glucogenogénesis: Activación de monosacáridos, etapas, enzimas y cofactores intervinientes. Rol de la glucogenina. Glucógeno sintetasa. Mecanismo de ramificación. Importancia de los extremos no reductores del glucógeno. Degradación del glucógeno. Etapas y enzimas participantes. Glucógeno fosforilasa. Enzima desramificante. Ventajas comparativas entre hidrólisis y fosforólisis. Fosfoglucomutasa. Regulación de biosíntesis y degradación de glucógeno. Regulación alostérica y covalente de glucógeno sintetasa y glucógeno fosforilasa. Regulación alostérica por ATP/AMP y por glucosa y glucosa-6-fosfato. Diferencias entre hígado y músculo. Coordinación y regulación hormonal del metabolismo de glucógeno. Efectos de adrenalina, glucagón,  $Ca^{++}$  e insulina. Amplificación de las señales regulatorias. Protein-quinasas y protein-fosfatasa intervinientes. Patologías asociadas con el almacenamiento y metabolismo del glucógeno.

Interconversión entre monosacáridos: Entrada de fructosa a la glucólisis. Interconversión entre glucosa y galactosa. Ingreso de otros azúcares a la vía glicolítica, vinculación con alteraciones conducentes a patologías asociadas al metabolismo de azúcares. Entrada de galactosa a la glucólisis. Galactosemia. Síntesis de lactosa. Formación de manosa-6-fosfato. Transformación de glucosa en ácido glucurónico y ácido ascórbico. Unidades disacáridas constitutivas de otros oligosacáridos estructurales o de reserva energética. Estructura y función de la celulosa en vegetales y animales. Papel desempeñado por la celulosa en el hombre. Ácido siálico y glicosaminoglicanos: estructura y función. O y N glicoproteínas, rol del dolicolfosfato. Oligosacáridos determinantes de los grupos sanguíneos. Estructura de pared celular y el componente proteoglicano de bacterias. Inhibición de su síntesis por penicilina.

## **UNIDAD 9: METABOLISMO DE LÍPIDOS**

Los lípidos cumplen en el organismo importantes funciones. Por un lado la oxidación de los ácidos grasos (que se encuentran acumulados como reserva en el tejido adiposo en forma de triacilglicéridos) constituye la más eficiente - y cuantitativamente más importante -fuente de energía para el organismo. Por otra parte, los lípidos anfipáticos son constituyentes imprescindibles de las biomembranas y debido a sus características hidrofóbicas permiten la compartimentalización celular. Otros roles de los lípidos incluyen funciones específicas tales como mensajeros en la transducción de señales, el mantenimiento de la integridad de los alvéolos pulmonares, la solubilización de sustancias no polares en fluidos corporales y la prosecución de ciertas etapas en el proceso de digestión y absorción de alimentos. Además, cuatro de nuestras vitaminas (A, D, E y K) son de naturaleza lipídica, así como numerosas hormonas esteroides. Los eicosanoides, sustancias que intervienen en diversos procesos fisiológicos, son también derivados lipídicos.

Desde el punto de vista de la salud, anormalidades en los procesos fisiológicos y metabólicos en los que intervienen los lípidos, constituyen un factor importante en el desarrollo de patologías de las cuales la aterosclerosis y las dislipidemias son los ejemplos más demostrativos. Enfermedades relacionadas con el metabolismo de ácidos grasos y triacilglicéridos incluyen la obesidad, la diabetes, la cetoacidosis y las anormalidades en el transporte de lípidos en la sangre y en el ámbito intracelular. Por estas razones, es importante familiarizarse con los fundamentos de la bioquímica de los lípidos y su metabolismo para comprender la fisiología normal y las diversas patologías asociadas a estas rutas metabólicas.

Digestión de lípidos. Lipasas digestivas, origen y descripción. Bilis: composición y función. Ácidos biliares. Mecanismos de absorción de los lípidos. Transporte de lípidos en sangre. Lipoproteínas: diferentes tipos. Metabolismo de las lipoproteínas plasmáticas. Enzimas que intervienen en el mismo: lipoprotein-lipasa, lecitina-colesterol acil-transferasa, acil-CoA-colesterol acil-transferasa.



Hiperlipoproteinemias: características, clasificación. Defectos genéticos asociadas a ellas.

Metabolismo del tejido adiposo: Lipogénesis y lipólisis. Lipasa hormono-sensible. Regulación hormonal del metabolismo del tejido adiposo. Otras formas de regulación.

Activación de los ácidos grasos. Transporte de acil-CoA dentro de la mitocondria. Rol de la carnitina.  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos: etapas, balance energético y material. Regulación de esta ruta catabólica. Oxidación de ácidos grasos insaturados y de cadena impar. Oxidación peroxisomal

Formación de cuerpos cetónicos y su utilización. Regulación. Cetosis: causas.

Biosíntesis de ácidos grasos. Transporte de acetil-CoA mitocondrial al citosol. Acetil-CoA carboxilasa. Ácido graso sintetasa. Reacciones secuenciales para la síntesis del ácido palmítico. Elongación de la cadena. Desaturación de ácidos grasos. Familias de ácidos grasos. Ácidos grasos esenciales. Regulación del metabolismo de los ácidos grasos

Biosíntesis de triacilglicéridos. Biosíntesis de fosfoglicéridos. Síntesis de fosfoinosítidos. Ciclo del fosfatidil-inositol fosfato. Degradación de los fosfoglicéridos. Funciones de las fosfolipasas. Metabolismo de los esfingolípidos. Degradación de lípidos complejos. Esfingolipidosis.

Metabolismo del colesterol. Biosíntesis y su regulación. Catabolismo: formación de ácidos biliares. Ciclo enterohepático. Colesterol de la dieta. Principales hormonas esteroides. Acción metabólica de las hormonas esteroides: mecanismos.

Eicosanoides: características, tipos. Efectos fisiológicos. Biosíntesis: ciclooxigenasa, lipooxigenasa. Inhibidores de su biosíntesis.

## **UNIDAD 10: METABOLISMO DE AMINOACIDOS Y PROTEINAS**

En todas las células, diversos procesos contribuyen al mantenimiento de un reservorio adecuado de aminoácidos requeridos para la síntesis de proteínas y de sustancias nitrogenadas esenciales.

El organismo humano puede sintetizar solamente 11 de los 20 aminoácidos necesarios para la síntesis proteica. Aquellos aminoácidos que no pueden sintetizarse *de novo* en cantidades adecuadas, son denominados “esenciales” porque deben ser obtenidos de los alimentos que los contienen. Es importante conocer la síntesis de los aminoácidos así como el catabolismo de los mismos, que comprende -amino y la posterior la desaminación o la transferencia del grupo utilización de la cadena carbonada en la producción de energía o en la formación de glucosa en caso de ayuno.

Diversas patologías están relacionadas con alteraciones genéticas del metabolismo de los aminoácidos, ya sea en su transporte a través de membranas, su biosíntesis o su degradación.

**Aspectos nutricionales del metabolismo proteico.** Necesidad proteínica del organismo humano. Fuentes de aminoácidos esenciales. Digestión de proteínas y péptidos (exo- y endopeptidasas, carboxi- y aminopeptidasas, función del HCl estomacal). Absorción intestinal de aminoácidos: descripción del modelo de transporte trans-epitelial en intestino y túbulo renal. Destinos metabólicos de los aminoácidos (función calorigénica, proteogénica, balance nitrogenado). Transporte inter-celular de aminoácidos (ciclo del  $\gamma$ -glutamilo).

**Principales transformaciones bioquímicas de los aminoácidos.** Transaminaciones: mecanismo, ejemplos de importancia en el diagnóstico y pronóstico de patologías humanas. Desaminaciones: mecanismo, ejemplos y clasificación. Requerimientos de coenzimas en cada caso. Descarboxilaciones: formación de aminas de interés biológico (espermína, histamina, serotonina, etc.).

**Destino metabólico del amonio.** Síntesis de glutamato y glutamina: importancia biológica. Ciclo de la urea: función biológica, intermediarios, enzimas y cofactores intervinientes. Regulación del ciclo. Interrelación con otros metabolismos. Participación hormonal.

**Síntesis de creatina y creatinina:** ruta metabólica, enzimas tejidos que intervienen. Importancia clínica.



**Metabolismo particular de los aminoácidos:** alanina, glicina, serina. Utilización metabólica de los compuestos de un átomo de carbono. Fenilalanina y tirosina. Histidina. Triptofano. Aminoácidos azufrados.

**El metabolismo de aminoácidos y proteínas en diferentes patologías humanas.** Efectos metabólicos de la hiperamoniemia. Principales alteraciones bioquímicas en el albinismo, la oligofrenia fenilpirúvica, la cistinuria, alcaptonuria y otras enfermedades congénitas del transporte o por deficiencias enzimáticas. Deficiencias de las enzimas del ciclo de la urea.

### **UNIDAD 11: INTEGRACION DEL METABOLISMO OXIDATIVO. SU ADAPTACION EN DIFERENTES CONDICIONES FISIOLÓGICAS Y DISFUNCIONES METABÓLICAS EN ESTADOS PATOLÓGICOS.**

Independientemente de la especialización fisiológica y bioquímica que presenta cada tipo celular, existe un patrón común según el cual todas las reacciones metabólicas operan de manera concertada. De la perfecta regulación de estos procesos sincrónicos e interdependientes, surgen los efectos observables en cada población tisular. Conocer los aspectos generales de esta compleja red de rutas regulables, nos permite comprender con mayor detalle las características de un proceso normal, y poder abordar estrategias para corregir un mecanismo defectuoso.

Principales vías metabólicas y niveles de control intracelular: Regulación del metabolismo de glúcidos, lípidos y proteínas. Integración de los tres metabolismos entre sí, el ciclo de los ácidos tricarbóxicos y la fosforilación oxidativa. Modulación de la actividad de enzimas claves. Compartimentalización intracelular de las rutas metabólicas. Control hormonal integrado del metabolismo energético

#### **Interdependencia de los principales órganos en el metabolismo de los combustibles en los vertebrados.**

Especialización y división metabólica del trabajo entre los principales órganos: cerebro, músculo, tejido adiposo, hígado y sangre.

Adaptación del metabolismo de glúcidos, lípidos y proteínas a diferentes situaciones fisiológicas: Estrés agudo y crónico, ayuno temprano y prolongado, ejercicio aeróbico y anaeróbico, embarazo y lactancia

Desregulaciones del metabolismo de glúcidos, lípidos y proteínas en diferentes situaciones patológicas: Desnutrición calórico-proteica, Diabetes mellitus, Síndrome metabólico (resistencia periférica a la insulina), Obesidad, Alcoholismo. Insuficiencia hepática e insuficiencia renal

### **UNIDAD 12: METABOLISMO DE LAS BASES NITROGENADAS Y NUCLEÓTIDOS**

En unidades previas se abordó el mecanismo por el que el ATP es sintetizado a expensas del ADP y se ha visto la participación del mismo y otros ribonucleósidos trifosfato en muchas reacciones del metabolismo. En esta unidad se aborda el estudio de las vías de síntesis de novo de los nucleótidos, así como el reciclado de sus bases nitrogenadas. La síntesis de los desoxiribonucleótidos, en especial del deoxitimidilato, presenta un interés biomédico particular ya que es el blanco de las principales estrategias de la quimioterapia anticancer. El catabolismo de los nucleótidos y bases nitrogenadas se estudia en correlación con algunas patologías en que estas vías son deficientes. Por último, también se estudia en esta unidad las vías de síntesis a partir de precursores vitamínicos de las coenzimas nucleotídicas NAD, NADP, FMN, FAD y CoA; cuya participación central en el metabolismo fue vista en unidades anteriores

Biosíntesis de ribonucleótidos. Síntesis "de novo" de ribonucleótidos purínicos y pirimidínicos. Regulación de las vías. Quinasas de nucleósidos mono- y difosfato: reacciones catalizadas y propiedades de especificidad por la base o la pentosa. Reciclado de bases púricas y



pirimidínicas: Vía del salvataje. Deficiencias genéticas en las vías de reciclado y síntesis "de novo": Síndrome de Lesch-Nyhan y aciduria orótica hereditaria.

Biosíntesis de desoxiribonucleótidos. Ribonucleótido reductasa. Mecanismo catalítico y regulación de su actividad y especificidad. Biosíntesis del deoxitimidilato (dTMP): Reacciones de la timidilato sintasa, dihidrofolato reductasa y serina hidroximetil transferasa. Activación de la síntesis de dTMP en la fase S del ciclo celular. Agentes farmacológicos que inhiben la síntesis de dTMP: su utilidad en la terapia anticancer.

Catabolismo de los nucleótidos y bases nitrogenadas. Degradación de nucleótidos pirimidínicos. Productos generados por uracilo o timina.  $\beta$ -alanina o  $\beta$ -aminoisobutirato: utilidad diagnóstica de su detección en orina. Catabolismo de nucleótidos purínicos: enzimas y reacciones involucradas. Patologías asociadas a la degradación de purinas: Inmunodeficiencias por actividad deficiente de ADA y PNP; Gota. Inhibidores de xantina oxidasa (alopurinol).

Biosíntesis de coenzimas nucleotídicas: Síntesis de NAD<sup>+</sup>, NADP<sup>+</sup>, FMN, FAD y Coenzima A.

### **UNIDAD 13: ESTRUCTURA DEL ADN Y DEL GENOMA. REPLICACIÓN, REPARACIÓN Y RECOMBINACIÓN DEL ADN**

En esta unidad abordaremos la estructura y propiedades del ADN, macromolécula que salvo en algunos virus constituye el reservorio de la información genética en los seres vivos, así como su interacción con las histonas y otras proteínas para formar los cromosomas y la cromatina. También abordaremos aquí: a) el mecanismo de su replicación, proceso por el que el ADN de una célula es duplicado generando dos copias idénticas que se transmiten a las células hijas; b) los mecanismos espontáneos e inducidos que generan mutaciones y diversos daños en el ADN; c) los mecanismos de reparación que confieren una alta estabilidad a esta macromolécula esencial, permitiendo sólo una muy baja tasa de variabilidad indispensable para la evolución; y d) los mecanismos de recombinación y reacomodamiento de genes así como sus funciones.

#### **Temas cubiertos en actividades obligatorias:**

Genes y cromosomas. Estructura de los ácidos nucleicos: uniones fosfodiéster, polirribonucleótidos y polidesoxirribonucleótidos. Nociones sobre su biosíntesis. Complementariedad de bases. Niveles de estructura. Hélices dobles. Tamaño de la molécula. Cromatina y estructura nuclear, cromosomas. Genes: continuos y discontinuos, exones e intrones. Superenrollamiento del ADN. Topoisomerasas. Antibióticos inhibidores de topoisomerasas. Histonas. Nucleosomas.

Flujo de la información genética: Replicación del ADN, reglas fundamentales (semiconservatividad, bidireccionalidad, semidiscontinuidad). ADN polimerasas, mecanismo de polimerización. Fidelidad, corrección de errores. Etapas y mecanismo de la replicación; enzimas y factores proteicos que intervienen. Diferencias entre pro- y eucariotes. Telomerasa y extensión de telómeros. Antibióticos y drogas citostáticas que interfieren en la replicación.

Conceptos de mutaciones, clasificación y naturaleza molecular. Mecanismos básicos y función de la reparación y recombinación del ADN.

#### **Temas cubiertos en clases teóricas no obligatorias:**

Mutaciones y daños en la estructura del ADN: Diferentes tipos de mutaciones: Transiciones, transversiones, deleciones e inserciones. Consecuencias de las mutaciones: cambio de sentido, corrimiento del marco de lectura, otras. Origen de transiciones espontáneas: Tautómeros raros de las bases nitrogenadas. Desaminación de bases. Agentes mutagénicos. Mutágenos que generan transiciones: análogos de bases; agentes desaminantes, alquilantes u oxidantes. Efecto de radiaciones ionizantes. Dímeros de pirimidinas. Agentes que producen daños diversos en el ADN. Agentes intercalantes. Detección de mutágenos: test de Ames. Relación entre mutágenos y carcinógenos.



Reparación del ADN: Mecanismos de reparación directa: Fotoreactivación de dímeros de pirimidinas. Alquiltransferasas. Reparación de malapareamientos: Rol de la metilación de bases en el reconocimiento de la hebra a reparar. Reparación por escisión de bases: Reconocimiento del uracilo como una base dañada en el ADN. Reparación por escisión de nucleótidos. Enfermedades hereditarias por defectos en los sistemas de reparación del ADN: cancer colonorectal hereditario, xeroderma pigmentosum.

Recombinación homóloga: Mecanismo de la recombinación homóloga. Rol en el crossing-over meiótico. Mecanismo y enzimas participantes en la recombinación general en bacterias. Rol de la recombinación homóloga en la reparación de daños del ADN: La respuesta SOS en bacterias. Reparación recombinacional: rol de la ADN polimerasa II. Reparación sujeta a errores: síntesis translesión de ADN por ADN polimerasas IV y V. Mecanismos de reparación recombinacional en eucariontes: Rol de ATM en la detección del daño, detención del ciclo celular e inducción de las enzimas de reparación. Rol de BRCA1 y BRCA2 en la reparación recombinacional. Deficiencias genéticas asociadas a ATM y enzimas de reparación recombinacional: ataxia-telangiectasia, síndrome de Bloom, anemia Falconi, cancer de mama hereditario). Reparación sujeta a errores por unión de los extremos: su importancia en la inestabilidad genómica de tumores.

Recombinación entre sitios específicos: Mecanismo básico y diferentes consecuencias: deleción, inserción, inversión o duplicación de fragmentos de ADN. Ejemplos de importancia biomédica: Origen de la hipercolesterolemia familiar. Generación de resistencia de tumores a metotrexato por amplificación del gen de dihidrofolato reductasa.

Mecanismos de transposición, escisión e integración: Escionasas, integrasas. Transposición conservativa. Transposición no replicativa y replicativa. Transposasas, resolvasas. Elementos genéticos móviles de bacterias: Fagos, plasmidos, transposones bacterianos. Mecanismo de conjugación. Importancia de la movilización de genes bacterianos en la generación de resistencia a antibióticos. Retrotransposición: Superfamilia viral y no viral de retroposones. Retrotranscriptasa e integrasa. Origen de pseudogenes y pseudogenes procesados. Origen de secuencias repetitivas: LINES, SINES, secuencias Alu. Rol de la transposición y retrotransposición en la evolución. Activación de protooncogenes por transposición. Transposición programada en el desarrollo de las células productoras de anticuerpos.

## **UNIDAD 14: TRANSCRIPCIÓN, PROCESAMIENTO Y DEGRADACIÓN DEL ARN.**

En esta unidad se estudiará el mecanismo por el que la información contenida en la secuencia de desoxiribonucleótidos del ADN se transcribe en una secuencia de ribonucleótidos (los ARN), los que cumplen un rol fundamental en la traducción de la información en la síntesis proteica. También veremos los mecanismos de los procesos de maduración del ARN que generan las moléculas funcionales finales y su importancia para la diversidad de productos proteicos que pueden generarse de un mismo gen eucariótico.

### **Temas cubiertos en actividades obligatorias:**

Propiedades de los ARN: Características diferenciales respecto al ADN. Tipos de ARN

Características de la transcripción: Reacción catalizada por las ARN polimerasas. Transcripción y procesamiento de ARN de procariotes: Estructura de la ARN polimerasa de procariotes. Rol de las diferentes subunidades. Rol de subunidades sigma en el reconocimiento de diferentes promotores. Concepto de promotores fuertes y débiles. Etapas de la transcripción. Mecanismo del inicio y elongación. Terminación de la transcripción en procariotes: mecanismo independiente y dependiente de rho. Procesamiento de transcriptos precursores de ARNr y ARNt.

Transcripción de los ARN en eucariontes: ARN polimerasas de eucariontes: características, propiedades y tipos de transcriptos generados. Estructura de promotores de eucariontes. Concepto de potenciadores y elementos de respuesta. Factores de transcripción generales y específicos. Maquinaria básica de transcripción por ARN polimerasa II. Rol de los principales TFI: Proteína de unión a TATA, fosforilación de ARNpol II por TFIIH, otros. Elongación y terminación de la transcripción en eucariontes.



Mecanismos de procesamiento de los ARN de eucariontes: Procesamiento de los ARNm: Adición de Cap en 5'. Clivaje y poliadenilación en 3'. Splicing: Diferentes mecanismos. Splicing autocatalítico. Secuencias indicadoras del inicio y finalización del intrón. El spliceosoma, snARNs y snRNPs. Edición del ARNm: ejemplo de apoB48 y apoB100. Procesamiento diferencial de los transcriptos precursores de ARNm: splicing alternativo, sitios alternativos de clivaje y poliadenilación. Procesamiento de transcriptos precursores de ARNr y ARNt.

Antibióticos, citostáticos y tóxicos inhibidores de la transcripción: rifampicina, actinomicina D,  $\alpha$ -amanitina.

**Temas cubiertos en los teóricos no obligatorios:**

Transcripción por la ARN polimerasa de procariontes. Características estructurales de los promotores de eucariontes. Rol de las secuencias -35, -10, UP y secuencias discriminadoras. Ciclos de iniciación abortivos. Las fases de elongación y terminación. Corrección de errores por ARN polimerasa bacteriana.

Transcripción por ARN polimerasa II de eucariontes. Estructura de promotores: diferentes elementos constituyentes. Rol de los diferentes TFII. Formación del complejo de preiniciación. Rol de complejos remodeladores de cromatina, histona acetilasa y proteínas mediadoras. Rol del dominio carboxilo terminal de la ARN polimerasa II. Su estado de fosforilación y correlación con el reclutamiento de factores de elongación y de procesamiento del transcripto.

Maduración, exportación y degradación de los ARN: Procesamiento de los transcriptos precursores de ARNr y ARNt en procariontes y eucariontes. Procesamiento de los ARNm eucarióticos. Adición de casquete en 5'. Clivaje y poliadenilación en 3'. Edición del ARNm: Edición por citidina deaminasa. Edición por adenosina deaminasa (ADAR). Edición guiada por ARN.

Splicing. Comparación entre diferentes mecanismos. El spliceosoma. Rol de los diferentes snRNP. Regulación del ensamble del spliceosoma por factores pro- y anti-splicing. Splicing y sitios de clivaje-poliadenilación alternativo: generación de diferentes mensajes a partir del mismo gen. Splicing alternativo constitutivo y regulado. Represores y activadores de splicing. Mutaciones que conducen a splicing aberrante.  $\beta$ -talasemias. Otras patologías humanas generadas por defectos en splicing alternativo.

Exportación de los ARNm, ARNt al citosol. Importación de proteínas ribosomales, ensamble nuclear de ribosomas y exportación al citosol. Degradación de los ARNm: Deadenilación, de-capping e hidrólisis por nucleasas.

## **UNIDAD 15: CÓDIGO GENÉTICO, TRADUCCIÓN, PROCESAMIENTO POST-TRADUCCIONAL, DESTINACIÓN Y DEGRADACIÓN CONTROLADA DE PROTEÍNAS**

En esta unidad se abordará el mecanismo de la traducción de la información desde una secuencia de nucleótidos a una secuencia de aminoácidos en un polipéptido. También abordaremos los mecanismos que asisten al plegamiento y las modificaciones post-transcripcionales, así como las señales y mecanismos que determinan el destino final de una proteína en la célula. También veremos cómo las proteínas son marcadas y destinadas para la degradación en proteasomas, un proceso que juega un rol clave en muchos procesos celulares como el control del ciclo celular y de distintas vías de señalización.

**Temas cubiertos en clases obligatorias:**

Código genético. Universalidad, excepciones. Degeneración. Codones de iniciación y de terminación. ARNt, anticodón. Isoaceptores. Teoría del balanceo. Ejemplos de corrimiento del marco de lectura.

Traducción. Activación de los aminoácidos. Especificidad y selectividad de las aminoacil-ARNt sintetetasas. Requerimientos energéticos. Estructura de los ribosomas en organismos procariontes y eucariontes. Síntesis proteica. Iniciación: ARNt iniciadores. Factores proteicos. Requerimientos energéticos. Elongación: Sitios aminoácido y peptídico. Factores proteicos. Consumo energético. Formación del enlace peptídico. Actividad de la peptidil transferasa. Actividad enzimática de naturaleza no proteica. Translocación. Terminación: Factores proteicos de terminación. Requerimientos energéticos.



Antibióticos y toxinas que inhiben la síntesis proteica en organismos procariotes y eucariotes. Su utilidad en medicina.

Procesos post-traduccionales. Desformilación o remoción del grupo amino terminal. Fosforilación, metilación, descarboxilación, etc. Glicosilación de proteínas. Péptido señal. Partícula de reconocimiento de señal (SRP). Importancia del retículo endoplasmático y del Golgi en los procesos post-traduccionales.

Empaquetamiento y destino final de las proteínas. Señalizaciones para diferentes organelas, membrana plasmática y proteínas extracelulares. Translocación e inserción de proteínas en membranas del retículo endoplásmico. Proteínas destinadas a mitocondrias, núcleo, peroxisomas. Papel de las chaperonas. Vida media. Degradación de proteínas. Ubiquitinización y degradación en proteasomas.

### **Temas cubiertos en clases no obligatorias:**

Modificaciones postraduccionales y plegamiento de proteínas: Diferentes modificaciones postraduccionales en proteínas. Plegamiento de proteínas. Enzimas y proteínas que asisten al plegamiento. Rol de la isomerasa de puentes disulfuro (PDI) y de la isomerasa de peptidos de prolina (PPI). Chaperonas: tipos y mecanismos. Chaperonas de acción individual: diferentes tipos y localización celular. Proteínas de choque térmico. Chaperoninas: estructura de complejos, modos de acción y localización celular. Rol de chaperonas en la traslocación de proteínas a través de membranas y en la activación de factores de transcripción

Destinación y tráfico de proteínas en la célula: Conceptos básicos sobre tipos de señales y vías de destinación. Destino de proteínas sintetizadas en polisomas libres y en el retículo endoplásmico rugoso. Conceptos de traslocación co-traducciona y post-traducciona a través de membranas.

Secreción de proteínas por bacterias: Chaperonas y proteínas de la maquinaria de traslocación. Señales clivables y proteasas involucradas

### Destino de proteínas sintetizadas en polisomas libres:

Importación post-traducciona de proteínas por mitocondrias y peroxisomas: Traslocadores de la membrana mitocondria externa (TOM) e interna (TIM). Señales y mecanismos básicos de reconocimiento para destinación a diferentes compartimentos mitocondriales (matriz, membrana interna o externa, espacio intermembrana). Señales y mecanismos de importación de proteínas por peroxisomas. Rol de chaperonas citosólicas y mitocondriales en la importación mitocondria y peroxisoma.

Tráfico bidireccional de proteínas y ARNs a través del poro nuclear: Estructura del poro nuclear. Nucleoporinas. Exportinas e importinas. Señales de localización nuclear (NLS) y señales de exportación nuclear (NES). Rol de proteínas G monoméricas (Ran). Transporte acoplado de ARNs o proteínas sin señales a proteínas con NES o NLS.

Acilación e isoprenilación de proteínas: mecanismo y consecuencias  
Importación post-traducciona en retículo endoplásmico

### Destino de proteínas sintetizadas en retículo endoplásmico rugoso:

Traslocación cotraducciona al RE: Partícula de reconocimiento de señal. Receptor de ribosomas. Maquinaria de traslocación y clivaje de la señal. Proteínas integrales de membrana. Diferentes señales de anclaje y secuencias stop-transfer. Integración en la membrana de proteínas multipaso. Unión covalente a glicosil-fosfatidilinositol (GPI)

Plegamiento de proteínas en RE y N-glicosilación: Chaperonas del RE. Calnexina, BiP. Regulación de la expresión de BiP. Inicio de la N-glicosilación en RE y su rol en el control de calidad del plegamiento. Glicosilación en los diferentes compartimentos de Golgi. Glicosilación diferencial en proteínas lisosomales y secretadas.

Tráfico vesicular en las vías secretoria y endocítica: Tipos de vesículas recubiertas: COPI, COPII y recubiertas de clatrina. Su participación en el tráfico entre diferentes compartimentos celulares. Mecanismos básicos de brotación de vesículas recubiertas, desnudamiento y fusión con la membrana blanco. Proteínas G involucradas en el ensamblado y desensamblado de la cubierta (Sar-1, ARF). Rol de la dinamina en la brotación de vesículas recubiertas de clatrina. Mecanismos que determinan la especificidad de las proteínas a cargar en las vesículas. Proteí-



nas cargo de membrana, Receptores de proteínas cargo solubles. Rol de las proteínas adaptadoras (AP) en las vesículas recubiertas de clatrina. Señales que dirigen a las proteínas a vesículas específicas: Señales de residencia para proteínas solubles y de membrana del RE. Señal que dirige a lisosomas, señales de proteínas endocitadas, otras. Interacción reversible entre proteínas cargo y receptores de cargo: importancia del pH en los diferentes compartimentos celulares. La reacción de fusión específica con la membrana blanco: Rol de NSF, SNAP, v-SNAREs y t-SNAREs en la reacción de fusión. Rol de las proteínas Rab y efectores de Rab. Secreción constitutiva y secreción regulada. La toxina botulínica. Procesamiento proteolítico de proteínas secretadas.

Endocitosis mediada por receptor: receptor de LDL, receptor de transferrina. Transcitosis. Mecanismos de fusión de membrana específica en la infección viral. Ej: fusión inducida por Gp41 de HIV, fusión inducida por hemaglutinina de influenza.

Rol del citoesqueleto en el tráfico vesicular: Microfilamentos de actina y sus proteínas motoras: isoformas de miosina involucradas en el movimiento de organelas y vesículas. Microtúbulos y sus proteínas motoras: kinesinas y dineína.

Otras vesículas involucradas en el tráfico celular de proteínas y lípidos. Caveolina y caveolas

Degradación de proteínas: Degradación lisosomal y proteosomal. Recambio de proteínas celulares. El residuo del extremo N y estabilidad de las proteínas. Estructura del proteasoma. Degradación regulada de proteínas. Ubiquitina y el sistema de ubiquitinación. Enzima activadora de ubiquitina (E1), enzimas conjugante de ubiquitina (E2) y ubiquitina ligasas (E3). Multiplicidad y especificidad de ubiquitina ligasas. Diferentes modos de regulación de ubiquitina ligasas o de activación de señales de degradación. Ejemplos de procesos celulares regulados por degradación proteasomal de proteínas. Inhibidores proteasómicos como agentes antitumorales.

## **UNIDAD 16: REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA**

La regulación de la expresión génica puede ocurrir en diferentes niveles, pero lo más frecuente tanto en bacterias como en células eucariotas es la regulación de la frecuencia de inicio de la transcripción. Estos mecanismos regulatorios, relativamente bien conocidos en bacterias, son mucho más complejos en eucariotes donde una estrategia frecuente es desencadenar la acetilación de histonas y la remodelación de la cromatina para favorecer la accesibilidad del promotor y otros sitios y permitir el ensamblaje de la maquinaria de la transcripción. Otros mecanismos que operan en eucariotes es el silenciamiento de genes por metilación de bases y formación de heterocromatina. Tanto en procariontes como en eucariotes, la expresión génica también puede ser controlada a nivel de la traducción. En eucariotes, el control del splicing alternativo y la edición del ARNm son mecanismos que permiten la producción de productos proteicos alternativos a partir del mismo gen.

Principios generales de la regulación de la expresión génica: Expresión constitutiva, inducción y represión. Niveles de control de la expresión génica.

Regulación de la transcripción en procariontes: Promotores fuertes y débiles. Uso de diferentes subunidades sigma. Operones bacterianos. Sitios regulatorios. Reguladores positivos y negativos. Operones catabólicos. El operón lac: control por cAMP y alolactosa. El operón trp: Regulación negativa, Atenuación transcripcional. Regulación por recombinación: genes de flagelina en salmonella

Regulación traduccional en procariontes: Coordinación de síntesis de proteínas ribosómicas con la síntesis de rARN. Guanosina tetrafosfato y respuesta al déficit de aminoácidos

Regulación de la transcripción en eucariontes:

Heterocromatina y eucromatina. Silenciamiento de genes por metilación de bases. Mecanismos de herencia epigenética. Inactivación de un cromosoma X en hembras. Submetilación e hipersensibilidad a ADNasas de las regiones transcripcionalmente activas de los cromosomas. Modificación covalente de histonas. Histona acetil transferasas (HATs) y desacetilasas. Bromodominios. Complejos remodeladores de cromatina.



Elementos regulatorios de eucariotes. Conceptos de potenciadores (enhancers), silenciadores y elementos de respuesta. Proteínas regulatorias: Factores de transcripción específicos, mediadores, coactivadores y represores. Ensamble de la maquinaria de transcripción. Reclutamiento de HATs, complejos remodeladores de cromatina y factores de transcripción basales.

Regulación transcripcional por hormonas esteroideas: Estructura de dominios de receptores esteroideos y sus elementos de respuesta. Reclutamiento de coactivadores y corepresores. Agonistas y antagonistas de receptores de esteroideos: su utilidad farmacológica

Control transcripcional por cAMP. Elemento de respuesta al cAMP (CRE); Proteínas de unión a CRE (CREB y CBP). Dominios de CBP: HAT y bromodominios. Reconocimiento de CREB fosforilado por KIX

Control transcripcional por insulina. Factores de transcripción específicos involucrados en la regulación del metabolismo por insulina

Regulación postranscripcional en eucariotes. Control de splicing alternativo y edición de mARN: mecanismos de generación de diferentes productos a partir del mismo gen. Control de la exportación y degradación del mARN.

Controles traduccionales en eucariotes. Fosforilación de factores de iniciación de la traducción: Síntesis de globina en reticulocitos y su control por niveles de hemo; Inhibición de la traducción por interferones. Elementos de respuesta al hierro (IREs) en los mARN de ferritina y receptor de transferrina: rol de la apo-aconitasa como represor traduccional y estabilizante de mARN

Control de la expresión génica en el desarrollo: Fundamentos básicos

## **UNIDAD 17: TECNOLOGÍA DEL ADN RECOMBINANTE**

La modificación de genes, su sobre- o sub-expresión, y su expresión heteróloga en células o animales de laboratorio transgénicos es una herramienta que está permitiendo un rápido avance en muchas áreas de la Bioquímica y Biología Molecular y ciencias relacionadas. Por éstos métodos puede estudiarse la función de una proteína o un ARN en la célula o en un organismo entero, o la importancia de un dominio o de un residuo de la macromolécula para su estructura y función. También estos métodos han permitido el desarrollo de técnicas de diagnóstico de uso cada vez más frecuente en medicina y se vislumbra que en un futuro estos métodos permitirán el tratamiento de diversas enfermedades con el reemplazo terapéutico de genes defectuosos o con la inserción de copias adicionales de ciertas porciones del genoma (terapia génica). En esta unidad se abordan los fundamentos y aplicaciones de los métodos más frecuentes basados en la tecnología del ADN

Fundamentos de la clonación del ADN. Utilización de las endonucleasas de restricción. Vectores de clonación. Técnica de clonado de genes. Bibliotecas de ADN. Vectores de expresión. Transferencias Southern y Northern. Amplificación de segmentos de ADN por la reacción de polimerización en cadena (PCR). Secuenciación del ADN. Etapas para la producción de cADN y su expresión en bacterias. Transferencia de ADN a procariontes y eucariotes. Aplicaciones de la tecnología del ADN recombinante. Sobre y subexpresión de genes en cultivos celulares y modelos animales transgénicos. ARN antisentido. ARN de interferencia. Modelos animales (knockout). Mutagénesis dirigida. Polimorfismos de genes humanos (RFLP). Diagnóstico de enfermedades genéticas. Terapia génica. El proyecto del genoma humano.

## **UNIDAD 18: REGULACIÓN DE LA PROLIFERACIÓN CELULAR Y APOPTOSIS. ONCOGÉNESIS**

En esta unidad se abordan los mecanismos moleculares responsables del control del ciclo celular y de la apoptosis, así como las bases moleculares de la carcinogénesis. Estos temas constituyen un ejemplo concreto de: a) el delicado equilibrio existente entre los mecanismos regulatorios normales y las desregulaciones conducentes a situaciones patológicas b) cómo el avance de la Bioquímica y Biología Molecular han permitido revelar las bases de estos comple-



jos mecanismos regulatorios y c) cómo el conocimiento básico en esta área influye sobre la medicina.

Sistema de control del ciclo celular: Principales proteínas que constituyen el sistema de control. Ciclinas y proteína-cinasas dependientes de ciclinas (CDK). Diferentes tipos y sus roles en las diferentes etapas del ciclo. Regulación de la actividad de CDKs por ciclinas, por proteínas inhibitoras de CDK (CKI) y por modificación covalente (fosforilación-defosforilación). Proteínas-cinasas y fosfatasas que controlan la actividad de las CDK. Complejos ubiquitina-ligasas que participan en el control del ciclo celular (SCF y APC): Mecanismos de activación y su rol en la degradación de ciclinas, CKI y otras proteínas que controlan el avance del ciclo celular. Reguladores transcripcionales en el sistema de control del ciclo celular: El complejo Rb/E2F, mecanismo de activación y rol en el pasaje de G1 a S. Mecanismo de activación de CDK de fase S. Desencadenamiento de la síntesis de ADN por S-CDK. Mecanismo que asegura una única replicación por ciclo celular. Mecanismo de activación de CDKs mitóticas. Sustratos de M-CDK y desencadenamiento de fase M: Fosforilación de condensinas, laminina y otras proteínas. Rol de APC en el desencadenamiento de la anafase: Su mecanismo de activación y degradación de cohesinas. Desencadenamiento de la citocinesis. Controles de calidad en el ciclo celular: Mecanismos que detienen el ciclo por daños o falta de integridad en el ADN. Rol de proteínas-cinasas (ATM/ATR, chk1 y 2), fosfatasas (Cdc25), factores de transcripción (p53) e inhibidores de CDK en la detención del ciclo celular por ADN dañado.

Control del ciclo celular por mitógenos, factores de crecimiento e inhibidores del crecimiento (ej: TGF- $\beta$ ). Receptores y vías de señalización involucradas. Receptores con actividad tirosinasa intrínseca o asociada. Vías de señalización (ej: Ras/MAPK, PI3K/PKB, JAK/SATAT, otras). Factores de transcripción involucrados en las respuestas a factores de crecimiento y mitógenos (ej: Fos, Jun, Myc).

Mecanismo y regulación de la apoptosis: Diferencias entre apoptosis y necrosis. Factores externos e internos que desencadenan la apoptosis. Inductores, reguladores, adaptadores y efectores de apoptosis. Señales externas: factores y receptores de muerte. Factores de supervivencia. Rol de la vía PI3K/PKB en la inhibición de apoptosis. Señales internas: inducción de apoptosis por daños en el ADN, rol de p53. Rol de la mitocondria en la apoptosis. Reguladores apoptóticos: familias de proteínas BCL pro- y antiapoptóticas. Adaptadores: rol del citocromo c y Apaf-1 en la apoptosis. Efectores: Caspasas. Diferentes tipos, mecanismos de activación y rol en la apoptosis.

Mecanismos moleculares básicos de la carcinogénesis: Desregulación del control de la proliferación celular. Oncogenes y Antioncogenes (supresores de tumores), diferentes mecanismos de activación o inactivación. Principales vías de señalización y circuitos regulatorios asociados a la carcinogénesis en humanos. Desregulación de genes asociados a : factores de crecimiento, sus receptores y vías de señalización; el ciclo celular y sus mecanismos de control de calidad; el control de la apoptosis. Otros genes de importancia en la carcinogénesis: Sistemas de reparación del ADN. Telomerasa y su importancia en la inmortalización de células tumorales. Metástasis y angiogénesis: genes involucrados en su control. Mecanismos de carcinogénesis inducidas por virus.

Bases moleculares de drogas anticancer: Inhibición de la síntesis de desoxiribonucleótidos. Inhibición de la replicación del ADN. Interferones y su mecanismo de acción. Inhibidores de proteín-quinasas. Inhibidores de angiogénesis.

## **UNIDAD 19: VIRUS Y PRIONES. MECANISMOS MOLECULARES DE REPLICACIÓN, INFECCIÓN Y PATOGENICIDAD. BASES MOLECULARES DE LA ACTIVIDAD DE DROGAS ANTIVIRALES**

Los priones (o proteínas infecciosas) no contienen material genético. Sin embargo, pueden ser transferidos entre organismos y ser infecciosos. Como los péptidos amiloideogénicos, los priones son proteínas celulares o fragmentos de éstas que tienden a adquirir una conformación rica en lámina  $\beta$  que se agrega en fibras amiloideas y pueden contagiar esa conformación a otras moléculas de la misma proteína. Los virus, en cambio, contienen material genético (ADN



o ARN) que es replicado y contiene información para la síntesis de proteínas. A diferencia de los transposones que no pueden salir de la célula, los virus tienen genes que codifican proteínas para empaquetar su material genético en partículas virales que pueden salir de una célula e infectar a otra. En esta unidad se abordan los mecanismos bioquímico-moleculares que confieren a priones y virus sus características de elementos replicativos infecciosos. También se tratan las bases moleculares de la actividad de los fármacos antivirales más comunes.

Reino horizontal de los transposones. Definición de virus, virión y prión. Diferencias y semejanzas como elementos autoreplicativos infectivos.

Características básicas de la enfermedad priónica: encefalopatías espongiiformes. Mecanismo bioquímico subyacente en su etiopatogenia.

Definición de virus. Diferencia con otras entidades ultrafiltrables que transportan información genética: plásmidos, transposones, etc.

Estructura general de un virus típico y sus variantes. Concepto de envoltura, cápside, y core. Funciones de cada constituyente durante el proceso de copia. Tipos de simetrías en virus de importancia Médica (ejemplos).

Mecanismos clásicos de replicación del genoma viral. Clasificación de los siete grupos de Baltimore (tipos de ácidos nucleicos y polaridad, modo en que se copian). Generación de las copias maduras y proceso de diseminación (gemación, brotación, lisis celular). Posibilidades de intervención terapéutica según sea el mecanismo de copia.

Los virus como productores de cáncer. Ejemplos de virus que provocan cáncer en humanos recurriendo a diferentes estrategias (alteración del ciclo celular, activación de proto-oncogenes, supresión de anti-oncogenes, etc.). Posibilidades de intervención terapéutica (vacunas).

Etapas del ciclo viral como blancos susceptibles al ataque farmacológico. Ejemplos de uso clínico (aciclovir y herpes-virus, inhibidores de proteasas y HIV).

Interferones. Definición y características de cada sub-tipo. Etapas del ciclo viral que son interferidas. Uso clínico de los interferones en las infecciones retrovirales más frecuentes.

Importancia de la hipermutagenicidad del genoma viral: consecuencias a largo plazo. Virus emergentes y pandemias. Virus compuestos por recombinación: adquisición de virulencia para los humanos (concepto de reservorio, huésped asintomático y propagador de cadena). Ejemplos de virus recombinados de importancia clínica (SARS, H5N1, H1N1, HTLV, denguevirus, y variantes hipermutadas de HIV-I y HIV-II).

Los virus como agentes terapéuticos (virus quiméricos en la estrategia de la terapia génica, nanomáquinas virales, y empleo de bacteriófagos en la cura de infecciones por bacterias en humanos).

El laboratorio de bioquímica clínica y los virus: métodos de diagnóstico, sensibilidad, especificidad, accesibilidad de las técnicas disponibles.

## **UNIDAD 20: BIOQUÍMICA DE TEJIDOS ALTAMENTE DIFERENCIADOS**

El rasgo distintivo más saliente en los organismos multicelulares lo constituye la presencia de tejidos altamente diferenciados y especializados. Para la vida y el mantenimiento de la salud, se requieren mecanismos precisos de comunicación intercelular que aseguren la coordinación entre los distintos tejidos de un órgano y entre los órganos que conforman los aparatos y sistemas del cuerpo humano. Estas acciones concertadas proporcionan las respuestas más apropiadas para ajustarse al medio interno y externo en constante cambio. El conocimiento de estos procesos en el estado fisiológico normal posibilita el diseño de estrategias paliativas o terapéuticas en caso de desórdenes funcionales.

### Metabolismo del hierro y hemo.

Sangre y sistema retículo endotelial. Proteínas involucradas en la homeostasis del Fe: transferrina, lactoferrina, ferritina y apoferritina, hemosiderina, ferroxidasas y ferredoxinas. Absorción intestinal del Fe: mecanismo en la mucosa duodenal y su regulación. Control por hierro de la síntesis de ferritina y transferrina. Utilización del Fe: DMT, IRP e IRE. Aplicación a casos clínicos: anemia ferropénica, ataxia cerebelar y ataxia de Friedreich, mutantes IREs, déficit de ceruloplasmina, y hemocromatosis de tipo I y de tipo II.



Estructura de las porfirinas. Biosíntesis del hemo. Vía metabólica, localización celular y subcelular. Porfirias y Porfirinopatías. Degradación del grupo hemo. Reacciones de la hemooxigenasa y bilirubina reductasa. Solubilidad de la bilirubina, efecto de la fotoisomerización. Conjugación hepática con glucuronato. Excreción biliar de bilirubina conjugada. Reducción intestinal a urobilinógeno. Circulación enterohepática. Transportadores involucrados en la circulación enterohepática. Excreción por heces y orina. Toxicidad de la bilirubina. Ictericias: Diferentes causas y diagnóstico diferencial.

Los tejidos hepático y renal en el metabolismo de compuestos endógenos y exógenos.

Concepto de biotransformación. Reacciones de funcionalización y de síntesis. Reacciones de funcionalización o de Fase I. Oxidasas de función mixta microsomal. Sistema de los citocromos "P<sub>450</sub>": isoformas genéticas y funciones biológicas. Inducción e inhibición enzimática. Reacciones de síntesis o de Fase II. Procesos de conjugación. Otros sistemas enzimáticos que metabolizan xenobióticos

Bioquímica del sistema nervioso central.

Características salientes del metabolismo neuronal. Procesos bioquímicos involucrados en la conducción del impulso nervioso. Estructuras bioquímicas implicadas en la sinapsis. Neurotransmisores: estructura, síntesis y efectos biológicos. Metabolismo de GABA, dopamina, adrenalina, nor-adrenalina, serotonina, y acetilcolina

Mecanoquímica de la contracción muscular.

Proteínas intervinientes: Microfilamentos de actina. El motor molecular de la contracción: la miosina II. Troponina y tropomiosina. Fuentes de energía del proceso. Rol del calcio. Rol del óxido nítrico en la contracción del músculo liso.

## **UNIDAD 21: NUTRICIÓN HUMANA**

Los nutrientes son los constituyentes alimenticios necesarios para sustentar el normal funcionamiento del organismo. Estos compuestos proveen la energía y los sillares estructurales que no pueden ser sintetizadas por el organismo a velocidad suficiente para sustentar una fisiología normal. Estos nutrientes incluyen ciertos aminoácidos, ácidos grasos, vitaminas y minerales.

Requerimientos energéticos. Macronutrientes, glúcidos, lípidos y proteínas. Importancia de las fibras. Minerales macro- y oligoelementos. Calcio y fósforo. Importancia de la hormona paratiroidea. Sodio, potasio y cloro. Metabolismo del hierro: absorción, circulación, depósito tisular y organificación.

Importancia de la nutrición durante la gestación y lactancia y en las enfermedades crónicas.

Vitaminas: generalidades. Propiedades físicas y químicas de las diferentes vitaminas. Riqueza vitamínica de los alimentos más comunes. Vitaminas hidrosolubles. Complejo B. Tiamina. Riboflavina. Ácido nicotínico. Piridoxina. Ácido pantoténico. Ácido fólico. Cianocobalamina. Biotina. Ácido ascórbico. Vitamina P. Vitaminas liposolubles. A, D, E. y K. Participación de las vitaminas en procesos enzimáticos. Noción de vitaminas como agentes terapéuticos.