

LAS ENZIMAS Y LOS ERRORES CONGENITOS DEL METABOLISMO¹

DR. JESÚS KUMATE²

DESDE EL PLANTEAMIENTO de Garrod en el sentido que algunas enfermedades estuvieran condicionadas genéticamente y que la patogenia fuese la ausencia específica de una capacidad metabólica, el campo de los defectos enzimáticos ha sido explorado muy fructíferamente y aclarado en los mecanismos por la interpretación de Beadle:

para un gen, una enzima.

Tatum resume la teoría del control genético de la actividad enzimática en las 4 postuladas siguientes:

1. Todas las acciones enzimáticas, en los seres vivos, están bajo control génico.
2. Los ciclos metabólicos y las transformaciones mediadas por las enzimas, pueden resolverse en reacciones individuales.
3. Existe correspondencia 1:1 entre los genes y las enzimas, lo que conduce a que:
4. Una mutación tenga como consecuencia la modificación de esa precisa reacción. Por tanto, *cada gen con-*

trola la producción, función y especificidad de una enzima.

Desde la proposición de la teoría, los trabajos experimentales y las observaciones de nuevos errores congénitos del metabolismo, forman una legión de información congruente con las ideas expuestas por Beadle y Tatum.

En el terreno médico, cada día aparecen descripciones de nuevos errores congénitos cuya correlación clínica nos permite conocer la importancia, para la economía del organismo, de la deficiencia padecida por ese individuo. El volumen de información es tan grande, que se ha integrado una disciplina con proyección desde los estudios de pregraduado hasta la práctica clínica diaria, la formación de especialistas y la integración de grupos de trabajo cada vez más numerosos cuyos resultados han obligado la aparición de libros, periódicos médicos así como la realización de symposia y congresos internacionales sobre el tema.

La presentación en este symposium está enfocada a 3 aspectos cuya discusión puede ilustrar, de manera didáctica, las posibilidades del control génico en distintas estructuras y las con-

¹ Presentado en el simposio sobre "Biología y patología de las enzimas", durante la sesión ordinaria del 12 de junio de 1968.

² Académico numerario. Hospital Infantil de México.

secuencias fenotípicas de tales modificaciones.

I. Estructura antigénica de las enterobacteriáceas.

El análisis antigénico de las bacterias de la familia enterobacteriáceas (colibacilos, salmonelas, shigelas, etc.), ha conducido al aislamiento de un gran número de especies, más de 1,000 en el caso de las salmonelas y número similar en el caso de los colibacilos.

Ha sido aclarado que la antigenicidad (responsable de la individualidad), está basada en el polisacárido presente en la pared celular y que los determinantes antigénicos corresponden a monosacáridos definidos u oligosacáridos (tri- o tetrasacáridos como máximo).

La interrelación enzima-antigenicidad, ha sido demostrada mediante el aislamiento de cepas bacterianas con deficiencias enzimáticas que muestran peculiaridades antigénicas reproducibles y permanentes; se trata de mutantes en las que la modificación genética se torna objetiva por un cambio enzimático que trae aparejada una alteración antigénica.

Las mutantes bacterianas, con relación a la cepa de referencia o tipo, pueden considerarse equivalentes a los humanos con errores congénitos del metabolismo. Si bien en la teoría un gen-una enzima, el producto de la acción genética es una proteína, en el caso de las bacterias cuya individualidad antigénica tiene como base a un carbohidrato, la extrapolación es aceptable en base a que la enzima tiene como consecuen-

cia la modificación del determinante antigénico.

La estructura química de un lipopolisacárido está conformada en base a una parte central sobre la que se insertan cadenas compuestas de diversos monosacáridos en las que ocurren zonas con estructuras antigénicas donde se encuentran los azúcares inmunodominantes.

El núcleo central está formado de 5 componentes: un fosfato de heptosa, un 2-ceto, 3-desoxioctonato, glucosa, galactosa y N-acetil glucosamina.

En la *Salmonella typhimurium*, amén de los azúcares básicos, las cadenas laterales están compuestas de manosa, rhamnosa y abequesa; éste último como azúcar terminal y la manosa como el más interno que funciona como inserción en el núcleo central. La mutante M2 de Osborn, posee sólo los azúcares basales, no tiene cadenas laterales y exhibe una deficiencia en una enzima: la fosfomanosaisomerasa, necesaria para convertir la fructosa-6P y su ulterior transformación a GDP-manosa (forma activa), esencial para la incorporación de ese azúcar y la construcción de la cadena lateral.

Sobre la misma bacteria, Stocker aisló una mutante que muestra una parte central defectuosa; carece de glucosamina y la deficiencia enzimática radica en la transferasa específica ya que la producción de la glucosamina y la activación UDP-N-acetil glucosamina, son operantes y sólo falta la enzima que inserte el azúcar activado.

Fukasawa con la cepa M. de *S. typhimurium* encuentra que carece de

glucosamina y de galactosa. La carencia enzimática afecta a la enzima que interconvierte UDP-glucosa y UDP-galactosa o sea una UDP-galactosa, 4-epimerasa.

Un caso exagerado de carencias enzimáticas la constituye la mutante Smith en la *S. typhimurium*; en esta bacteria faltan la glucosamina, la galactosa y la glucosa. En ausencia de fosfoglicosasomerasa, estas bacterias son incapaces de sintetizar glucosa 6-fosfato y los azúcares derivados de la UDP-glucosa no son generados por estas mutantes.

La situación extrema con déficits enzimáticos lo constituye la cepa de *S. typhimurium* aislada por Stocker en donde no hay fosfato de heptosa en el núcleo central.

II. Bases enzimáticas en la génesis de las mucoproteínas de los grupos sanguíneos.

El análisis de las sustancias de los grupos sanguíneos en los sistemas ABO y Lewis, ha revelado que la composición es muy similar, i.e.: 85% de carbohidratos y 15% de aminoácidos. A mayor abundamiento, los componentes del carbohidrato son los mismos: D-galactosa, N-acetil-galactosamina, D-glucosa, N-acetil D-glucosamina y L-fucosa y las proporciones relativas son muy similares.

Los estudios de Morgan y Watkins y los de Kabat, han sentado las bases enzimáticas que condicionan el que la membrana de los eritrocitos muestre actividad de un grupo sanguíneo específico.

Dado que los grupos se heredan de acuerdo a las leyes mendelianas y las variaciones enzimáticas se reflejan en la composición de las sustancias, a nivel de los azúcares inmunodominantes (en posición terminal), la biogénesis de estos compuestos ha sido aclarada en la forma siguiente:

1. El substrato primordial, es un compuesto que posee características antigénicas similares al polisacárido capsular del neumococo tipo XIV y que exhibe un menor contenido en L-fucosa. A partir de este precursor con estructuras básicas: β -Gal-(1 \rightarrow 3) NAcGlu-R y β -Gal-(1 \rightarrow 4)-NAcGlu-R se obtienen las diferentes sustancias de los sistemas ABO y Lewis.

2. La acción de un gen Le, Le o Le, le , a través de una α -L-fucosil-transferasa con GDP-L-fucosa, inserta a la fucosa activada en la NAcGlu unida 3 \rightarrow 1 con la β -Gal terminal, con un enlace α (1 \rightarrow 4) y producir un compuesto con actividad Le^a . El mismo gen no puede actuar sobre las cadenas tipo 2 (β -Gal (1 \rightarrow 4)-NAcGlu-R) debido a que el C⁴ está ocupado por el enlace con la β -Gal terminal.

3. El gen H, H o H, h mediante otra α -L-fucosil-transferasa que inserta α -L-fucosa (1 \rightarrow 2) en la β -Gal terminal, transforma a las cadenas tipo 1 ó 2 del precursor en sustancia H.

4. La acción combinada de las dos fucosil-transferasas sobre el substrato tipo 2 del compuesto primigenio, al introducir dos L-fucosas, una con enlace α (1 \rightarrow 2) a la β -Gal terminal y otra α (1 \rightarrow 4) a la N Ac-Glu-subterminal,

producen un compuesto con especificidad Le^b .

5. Los genes A_2A o A_2a , al actuar sobre un sustrato con actividad H (β -Gal-(1 \rightarrow 4)-N-Ac-Glu-R), a través una N-Ac Gal transferasa y el UDP-N-Ac Gal como fuente de N-Ac Gal activada, conduce a la formación de sustancias tipo A^* .

6. La operación de una D-galactosil transferasa y del UDP-Gal, mediada por los genes B_2B o B_2b resultan en la introducción de una molécula de α -Gal enlazada (1 \rightarrow 3) en posición terminal con la β -Gal subterminal.

7. La existencia del estado de *secretor* implica la presencia de las glucoproteínas con especialidad A_2B o H en la saliva y otros líquidos corporales, en tanto que los "no-secretores" no las poseen y en cambio la gran mayoría de ellos muestran Le^a , se explica por la acción de los genes Se_2Se o Se_2se , para secretores.

Según Watkins y Morgan la ausencia de una fucosil transferasa en los órganos secretorios de los no-secretores traería como consecuencia la incapacidad para la biosíntesis de las sustancias H, A o B .

Los trabajos de Ginsburg en leche humana, han confirmado las ideas de Watkins; en efecto, el hallazgo de 2'-fucosil-lactosa [fuc α (1 \rightarrow 2) Gal β (1 \rightarrow 4) Glu, en leche de secretores y su ausencia en los no-secretores, es muy sugestivo. La confirmación definitiva la obtuvo el mismo autor al descubrir que

en la leche de secretores hay actividad enzimática que transfiere residuos de L-fucosil, a partir de GDP-L-fucosil con 3 tipos de enlace, uno de ellos α (1 \rightarrow 2) a la Gal; en tanto que los no-secretores carecen de esa capacidad. La acción de esa enzima convertiría el precursor a sustancia H y a la sustancia Le^a en Le^b . Su ausencia en los no secretores impide la producción de H y por ende la de A y B , así como la de Le^b . La presencia de las glucoproteínas con actividad de grupo sanguíneo ya sea en la membrana eritrocítica o en las secreciones es explicada por la acción de 4 grupos de genes (Le, le) (H, h) (Se, se) y los correspondientes al sistema ABO. A partir de la sustancia precursora, la interacción ordenada y en secuencia de esos genes puede explicar todas las variantes encontradas. ¿Podemos hablar de errores congénitos del metabolismo cuando no existe una de las enzimas necesarias para integrar las estructuras glucoprotéicas de A , B o H ? ¿El estado de no secretor es un error del metabolismo? ¿Implica una minusvalía el fenotipo Bombay?

Las pruebas al respecto no son muy convincentes y los intentos para asociar una mayor incidencia de tumores, úlceras pépticas y otras anormalidades patológicas con determinados grupos sanguíneos, no han aportado resultados definitivos.

III. *Diversidad pectogénica en las glucogenosis.*

Desde que en 1928 van Creveld describió los primeros casos de glucogeno-

* Que poseen una α - N-Ac Gal unida (1 \rightarrow 3) a la β - Gal subterminal.

sis, las observaciones clínicas y los estudios bioquímicos, han aportado información que permite en la actualidad, clasificar 7-8 diferentes mecanismos en los que una deficiencia enzimática, particular en cada caso, conduce a la misma anomalía bioquímica, i.e.: contenido elevado de glucógeno.

Tipo I. *Déficit en glucosa-6-fosfatasa*; impide la fase final en la degradación del glucógeno y por retroalimentación e inhibición de producto, interfiere con las etapas previas.

Tipo II. *Déficit en α (1, 4) glucosidasa* (maltasa ácida); la carencia de enzima lisosomal interfiere con el rompimiento de enlaces α (1, 4) en las cadenas exteriores del glucógeno.

Tipo III. *Déficit en amilo-1,6-glucosidasa*; conduce a la degradación incompleta de la molécula del glucógeno, produciéndose una dextrina límite en la que las ramificaciones (enlaces 1,6) no son afectadas y se detiene en ese punto el catabolismo.

Tipo IV. *Deficiencia en amilo (1, 4 \rightarrow 1,6) transglucosidasa*; la falla en la enzima ramificadora produce una molécula anormal de glucógeno; en efecto, tiene menos ramificaciones y las cadenas exteriores e interiores son más largas. El resultado neto es que el hígado considera a ese glucógeno como cuerpo extraño y se instala una cirrosis.

Tipo V. *Deficiencias en los sistemas de fosforilasas*; las enzimas hepática y muscular, por un proceso de fosforólisis, generan glucosa-1-fosfato. Su déficit conduce a una defectuosa degradación del glucógeno y la acumulación consiguiente.

Tipo VI. *Deficiencia en fosfoglucomutasa*; la insuficiente capacidad para transformar la G1P a G6P, entorpece la etapa subterminal y al acumular el producto de las fosforilasas, lleva al aumento en la cantidad de glucógeno.

Tipo VII. *Deficiencia de fosfofructocinasas*; hasta 1965 no se conocían glucogenosis ocasionadas por deficiencias enzimáticas del ciclo glicolítico; Tarui y cols. describieron 3 casos con depósitos elevados de glucógeno muscular en las que el defecto radica en el sistema enzimático que transforma fructosa-6-P en fructosa 1,6-di-P (cinasas que utiliza ATP).

No se propusieron explicaciones fisiopatogénicas pero en base al hallazgo de acumulación de fructosa-6-P en el músculo y la disminución de la F1,6-diP; es probable que el exceso de la hexosamonofosfato, por inhibición de producto o retroinhibición (no demostrada) pueden interferir con alguna etapa en la degradación del glucógeno.

Pluralidad en los mecanismos que tornan objetivo un defecto enzimático

La idea inicial era muy sencilla: la alteración en la información genética, daría como resultado una proteína diferente, con propiedades nuevas y ello conduciría a una carencia absoluta del compuesto original y la ausencia de la actividad enzimática involucrada con esa estructura. Sin embargo, al estudiar los sistemas afectados, ha resultado que un gen anormal puede traducir el defecto en la actividad catalítica, a través de diversos mecanismos:

1. La enzima es sintetizada en cantidades normales, pero su estabilidad es menor; tal es el caso de la acatalasia en donde la actividad eritrocítica es menor del 1% de lo normal y en donde la inestabilidad de la molécula conduce a una degradación de la enzima y su consecuente inactivación. Pionelli, en la deficiencia de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, encuentra que la vida media de la enzima eritrocítica es de 13 días vs 62 en los normales.

2. La enzima producida resulta defectuosa en sus propiedades catalíticas; así, en la citrulinemia, la enzima sintetasa del ácido argininosuccínico, tiene una K_m de 1×10^{-1} ó 10^{-2} M, en tanto que en los normales los valores son de 4×10^{-4} M; es decir, la afinidad de la enzima por el sustrato es 25 a 250 veces menor en los enfermos. Algo similar ocurre con la colinesterasa sérica en los individuos sensibles al suxametonio.

REFERENCIAS

- Aebi, H.: *The investigation of inherited enzyme deficiencies with special reference to acatalasia*. Tomado de: Proc. 3rd. Int. Congress of Human Genetics. Editado por J. F. Crow y J. V. Neel. Baltimore, Johns Hopkins Press, 1967. p. 189.
- Beadle, G. W.: *Genes and chemical reactions in Neurospora*. Tomado de: Genetics, I. H. Herskowitz. Boston, Little, Brown and Co., 1962. Suplemento IV.
- Harris, H.: *Molecular basis of hereditary disease*. Brit. Med. J., 1: 135, 1968.
- Hug, G., Schubert, W. K. y Chuck, G.: *Phosphorylase kinase of the liver: deficiency in a girl with increased hepatic glycogen*. Science. 153: 1534, 1966.
- Lüderitz, O., Staub, A. M. y Westphal, O.: *Immunochemistry of O and R antigens of Salmonella and related Enterobacteriaceae*. Bact. Revs. 30: 192, 1966.
- Nikaido, H.: *Studies on the biosynthesis of cell wall polysaccharide in mutant strains of Salmonella. III. Transfer of l-rhamnose and d-galactose*. Biochemistry. 4: 1550, 1965.
- Nikaido, H. y Nikaido, K.: *Biosynthesis of cell wall polysaccharide in mutant strains of Salmonella. IV. Synthesis of S-specific side chain*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 19: 322, 1965.
- Osborn, M. J.: *Studies on the gram-negative wall. I. Evidence for the role of 2-keto-3-deoxyoctonate in the lipopolysaccharide of Salmonella typhimurium*. Proc. Nat. Acad. Sci. 50: 499, 1963.
- Osborn, M. J. y D'Ari, L.: *Enzymatic incorporation of N-acetylglucosamine into cell wall lipopolysaccharide in a mutant strain of Salmonella typhimurium*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 16: 568, 1964.
- Osborn, M. J., Rosen, S. M., Rothfield, L., Zeleznick, D. y Horecker, B. L.: *Lipopolysaccharide of the gram-negative cell wall: Biosynthesis of a complex heteropolysaccharide occurs by a successive addition of specific sugar residues*. Science. 145: 783, 1964.
- Salmon, M. Ch.: *La biosynthese des mucopolysaccharides a specificité immunologique chez l'homme*. Nouv. Rev. Franc. d'Hématol. 1: 583, 1961.
- Shen, L., Grollman, E. F. y Ginsburg, V.: *An enzymatic basis for secretor status and blood group substance specificity in humans*. Proc. Nat. Acad. Sci. 59: 224, 1968.
- Stetten, D. y Stetten, M. R.: *Glycogen metabolism*. Physiol. Revs. 40: 505, 1960.
- Tarui, S. y cols.: *Phosphofructokinase deficiency in skeletal muscle. A new type of glycogenosis*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 19: 517, 1965.
- Tedesco, T. A. y Mellman, W. J.: *Argininosuccinate synthetase activity and citrulline metabolism in cells cultured from a citrullinemic subject*. Proc. Nat. Acad. Sci. 57: 829, 1967.

16. Watkins, W. M.: *Blood-group substances*. Science. 152: 172, 1966.
17. Watkins, W. M.: *The possible enzymic basis of the biosynthesis of blood-group substances*. Tomado de: Proc. 3rd. Int. Congress of Human Genetics. Ed. por J. F. Crow y J. V. Neel. Baltimore, Johns Hopkins Press, 1967, p. 171.

V

ESTUDIO SOBRE LAS ENZIMAS DE ORIGEN LEUCOCITARIO¹

DR. MARIO SALAZAR-MALLÉN,^{2, 3} Q.B.P. DAVID MITRANI-LEVY³
Y DR. SERGIO R. ULLOA-LUGO³

DEBEMOS A DE DUVE el conocimiento de un sistema enzimático intracelular ampliamente extendido en los mundos vegetal y animal y que se caracteriza por su localización en un grupo definido de partículas citoplásmicas, conocidas con el nombre de lisosomas.¹

Por definición estos organelos se asocian desde el punto de vista químico a diferentes hidrolasas, pero en la actualidad se sabe que con éstas pueden existir otras sustancias no enzimáticas, que interesan en los procesos de defensa antimicrobiana y en la inflamación² y que en la tabla 1 tomada de Weissmann³ resumimos. Otras particularidades del sistema enzimático del que hablamos, están en que su efecto óptimo tiene lugar en un pH ácido, comparable al del interior celular⁴ y que la ma-

yoría de los sustratos sobre los que actúa son parte constitutiva muy importante de las células y de los espacios extracelulares.

Ocasionalmente y en relación con la composición genética si se trata de individuos de la misma especie o cuando se estudian diferentes tejidos, pueden faltar alguna o varias de las enzimas mencionadas, ocurriendo también que se les encuentre fuera del lisosoma, en el retículo endoplásmico por ejemplo⁵ pero sin soslayar estos casos, existen otros criterios, el anatómico y el funcional, que precisan el concepto de lisosomas.

En lo anatómico y aprovechando sobre todo la técnica histoquímica que revela las fosfatasa ácidas, Novikoff⁶ comprobó que los lisosomas son organelos susceptibles de identificación *in vivo*, pues se tiñen con el rojo neutro y con ciertos compuestos fluorescentes y los aisló mediante la sedimentación de los extractos celulares, convenientemente homogeneizados.

¹ Presentado en el simposio sobre "Biología y patología de las enzimas", durante la sesión ordinaria del 12 de junio de 1968.

² Académico titular.

³ Laboratorio de Investigaciones Inmunológicas, Dirección de Investigación en Salud Pública, Secretaría de Salubridad y Asistencia.