

## ANÁLISIS DE LOS SUPERCOMPLEJOS DE LA FOSFORILACION OXIDATIVA DE LAS MITOCONDRIAS DEL TEGUMENTO Y DEL PARENQUIMA DEL METACESTODO DE *Taenia crassiceps*

Haro-Álvarez N, Horton-García A, Flores-Guevara A, Pardo JP, Martínez F, Flores-Herrera O. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM. Apartado Postal 70-159, CP. 04510, Coyoacán, México, DF. Tel 56232510, Fax 56162419. [oflores@bq.unam.mx](mailto:oflores@bq.unam.mx)

Durante la última década se ha documentado que los complejos respiratorios y la ATP sintasa de las mitocondrias tienen la capacidad de asociarse en complejos supramoleculares, supercomplejos o respirosomas. Tales asociaciones se encuentran ampliamente distribuidas en la escala evolutiva, ya que se ha reportado su presencia en los animales vertebrados, las plantas, los hongos y en las bacterias. Sin embargo, existen algunas diferencias en cuanto a la composición y estequiometría de los diferentes supercomplejos; por ejemplo, en las plantas el supercomplejo más abundante es el constituido por una copia del complejo I y el dímero del complejo III ( $I_1-III_2$ ), mientras que en los mamíferos se pueden encontrar a los supercomplejos  $I_1-III_2$ ,  $I_1-III_2-IV$  y al  $I_1-III_2-IV_2$ . Al parecer, la formación de estos supercomplejos es particularmente importante, debido a que aún en organismos tales como *Saccharomyces cerevisiae*, una levadura que carece del complejo I, existen respirosomas, entre los cuales el predominante es el  $III_2-IV$ .

Se ha sugerido que la presencia de estos respirosomas puede promover algunas ventajas fisiológicas: incrementar la estabilidad de los complejos involucrados, canalizar los productos-sustratos de las reacciones de oxidación-reducción, promover la transferencia electrónica y disminuir así la formación de los radicales libres.

Sin embargo, se ha reportado que el complejo I de las mitocondrias íntegras del tegumento y del parénquima del cisticerco de *Taenia crassiceps*, es capaz de transformar en  $H_2O_2$  cerca del 10% del oxígeno que se consume por la cadena respiratoria (Del Arenal, 2005). Aunque existe la maquinaria enzimática para degradar al peróxido, es claro que su producción puede promover la aparición de especies reactivas de oxígeno, y con ella el daño celular.

Hasta ahora, no se ha descrito la asociación que existe entre los complejos respiratorios de este organismo y la producción de  $H_2O_2$ . En este trabajo se analizaron a los supercomplejos de la fosforilación oxidativa del tegumento y parénquima del cisticerco de *T. crassiceps*.

Las mitocondrias del tegumento y parénquima fueron aisladas de acuerdo a lo reportado por Del Arenal et al (1998). Las mitocondrias se solubilizaron en presencia de digitonina en una relación detergente/proteína desde 0.5/1 hasta 5/1. Los supercomplejos respiratorios se separaron por medio de electroforesis en condiciones nativas en geles azules o claros, en gradiente de poliacrilamida (BN-PAGE). La actividad en gel de los complejos I, II, IV y V se determinó como lo ha descrito Schägger y Pfeiffer (2000). La electroforesis en 2D (2D-SDS-PAGE) se realizó como lo describió Schägger (2006).

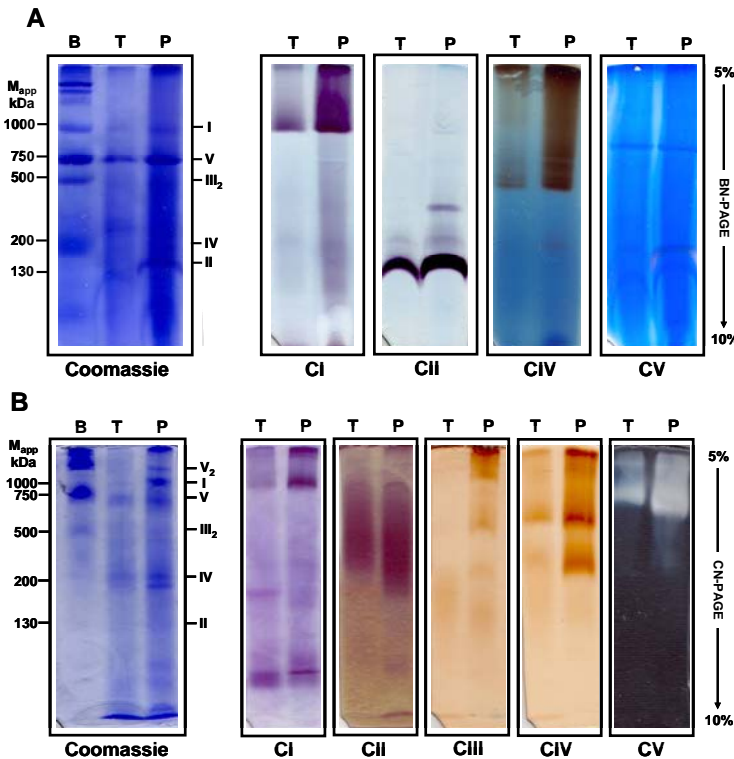


Figura 1. Electroforesis en condiciones nativas de las mitocondrias del cisticerco de *Taenia crassiceps*. Las mitocondrias del tegumento (T) y del parénquima (P) se solubilizaron con digitonina en una relación detergente/proteína de 5:1. Los complejos respiratorios se resolvieron en BN-PAGE (A) y en CN-PAGE (B). Coomassie = tinción con azul brillante Coomassie; CI = actividad de NADH deshidrogenasa; CII = actividad de succinato deshidrogenasa; CIII = complejo III; CIV = actividad de citocromo C oxidasa; CV = actividad de ATPasa. Las mitocondrias de bovino (B) se emplearon como estándar de peso molecular y de actividad (no mostrado).

La digitonina solubilizó a los diferentes complejos de la cadena respiratoria y fosforilación oxidativa en ambos tipos mitocondriales. Como se puede observar, la electroforesis en condiciones nativas (BN-PAGE y CN-PAGE) permite separar a los diferentes complejos respiratorios preservando su actividad (Fig. 1A y B, respectivamente). El peso molecular calculado para los diferentes complejos respiratorios del metacestodo es: complejo I = 1000, complejo V = 750, dímero del complejo III = 500, complejo IV = 200 y complejo II = 130 kDa. Se puede observar que el dímero del complejo V (1500 kDa) se puede resolver en la CN-PAGE (Fig. 1B) para ambos tipos mitocondriales; sin embargo, es claro que la presencia de supercomplejos formados por los componentes de la cadena respiratoria es escasa. El hecho que el complejo I no se encuentre asociado a los complejos III y IV puede estar relacionado con la producción de  $H_2O_2$  en la mitocondria íntegra. Actualmente esta posibilidad está siendo explorada en nuestro laboratorio.

#### Referencias

- Del Arenal IP, et al (1998), J. Parasitology, 84: 461-468.  
 Del Arenal IP, et al , (2005), Parasitology Internacional, 54:185-193.  
 Schägger H, Pfeiffer K. (2000), The EMBO Journal, 19:1777-1783.  
 Schäfer H, et al (2006) Journal Biological Chemistry, 281:15370-15375.  
 Schägger H. (2006) Nature protocols, 1:16-22.

#### Agradecimientos

Este trabajo fue parcialmente apoyado por la DGAPA (IN238402-3) y por CONACyT (52211).