



Sesión científica celebrada el 24 de noviembre de 2016 para conmemorar los Premio Nobel 2016 en Fisiología o Medicina y en Química



Juan Ramón Lacadena Calero
Coordinador de la sesión
Sesión celebrada el 24 de noviembre de 2016
e-mail: jrlgbucm@bio.ucm.es

ORDEN DEL DÍA

Presentación:

“El Premio Nobel 2016 en Fisiología o Medicina”

“El Premio Nobel 2016 en Química”

Excmo. Sr. D. Juan-Ramón Lacadena Calero

Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia

Ponentes:

“Autofagia: el sistema de reciclaje y defensa celular que tienen todas nuestras células”

Dra. Patricia Boya

Centro de Investigaciones Biológicas, CIB-CSIC

“Las nanomáquinas se crecen con Nobel de Química 2016”

Dr. Tomás Torres Cebada

Departamento de Química Orgánica, Universidad Autónoma de Madrid

El Premio Nobel 2016 en Fisiología o Medicina

Juan-Ramón Lacadena Calero

Un año más, la Real Academia Nacional de Farmacia se reúne en Sesión Científica para conmemorar los Premios Nobel correspondientes a las especialidades de Fisiología o Medicina y de Química.

Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2016

El 3 de octubre, la Asamblea Nobel en el Instituto Karolinska decidió otorgar el Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2016 al Dr. Yoshinori Ohsumi “por sus descubrimientos de los mecanismos para la autofagia”.

Como señalan Larsson y Masucci, miembros de la Asamblea Nobel en el Instituto Karolinska, en su resumen científico oficial de la investigación galardonada, nos podemos remontar a más de 60 años cuando se iniciaron una serie de descubrimientos sobre la fisiología y estructura celulares que finalizaron con los fenómenos de autofagia celular que hoy nos ocupan. En efecto, en 1955 y 1956, Christian de Duve descubrió que enzimas proteolíticas celulares eran secuestradas en unas estructuras de membrana, hasta entonces desconocidas, que él denominó *lisosomas*. Investigaciones posteriores demostraron que había otras estructuras de membrana que secuestraban porciones de citoplasma. Dado que tales estructuras tenían la capacidad de digerir partes del contenido intracelular, Christian de Duve eligió el término de *autofagia* para denominar tales procesos. Es obvio mencionar aquí que Christian de Duve recibió, junto con Albert Claude y George E. Palade, el Premio Nobel en Fisiología o Medicina 1974 “por sus descubrimientos relativos a la organización estructural y funcional de la célula”.

A modo de inciso, se puede mencionar en este contexto que otros fenómenos relativos a la organización funcional y estructural de las células han sido merecedoras del galardón Nobel en ocasiones anteriores, como es el caso del *aparato de Golgi* (Golgi y Ramón y Cajal recibieron el Premio Nobel en Fisiología o Medicina 1906 “en reconocimiento de su trabajo sobre la estructura del sistema nervioso”), de las *ciclinas* y el control del *ciclo celular* (Hartwell, Hunt y Nurse recibieron el Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2001 “por sus descubrimientos de los reguladores clave del ciclo celular”), de la *apoptosis* (Brenner, Horvitz y Sulston recibieron el Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2002 “por sus descubrimientos sobre la regulación genética del desarrollo de los órganos y la muerte celular programada”) o el *tráfico de vesículas* en las células (Rothman, Schekman y Südhof fueron galardonados con el Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2013 “por sus descubrimientos de la

maquinaria que regula el tráfico de vesículas, un sistema de transporte principal en nuestras células”).

Particularmente este año parecía que los amantes de la Genética íbamos a tener la satisfacción de disfrutar de otro premio Nobel en temas estrictamente genéticos, como bien podría haber sido la “edición genómica”. Pero no ha sido así. No obstante, como una pequeña compensación, a mí, en particular, me ha consolado ver cómo la Genética ha estado presente en la investigación premiada este año porque la metodología de trabajo ha incluido la utilización de mutantes genéticos de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. En efecto, estudiando miles de levaduras mutantes, el Dr. Ohsumi identificó 15 genes que son esenciales para la autofagia, permitiéndole estudiar la función de las proteínas codificadas por tales genes. Él pudo analizar cómo las señales de estrés inician el proceso de la autofagia celular y el mecanismo por el que las proteínas y los complejos proteicos promueven los diferentes estadios de la formación de los *autofagosomas* a partir de una estructura de doble membrana denominada *fagóforo*. Algo así como las bolsas de la basura con la que las células recogen los desperdicios para llevarlos a los lisosomas donde serán degradados y posteriormente reciclados.

Como señalaba la propia institución Nobel en la nota de prensa que anunciaba el premio, “gracias a Ohsumi y otros que han seguido sus huellas, ahora sabemos que la autofagia controla importantes funciones fisiológicas en las que algunos componentes celulares tienen que ser degradados y reciclados. La autofagia puede proporcionar rápidamente el combustible para la energía y los bloques de construcción para renovar componentes celulares y es, por tanto, esencial para la respuesta celular al ayuno y otros tipos de estrés. Después de la infección, la autofagia puede eliminar a las bacterias y virus que invaden la célula. Además, la autofagia contribuye al desarrollo embrionario y a la diferenciación celular. Las células también usan la autofagia para eliminar proteínas y orgánulos dañados como mecanismo de control de calidad crítico para contrarrestar el efecto del envejecimiento. Fallos en la autofagia han sido relacionados con enfermedades neurodegenerativas de la vejez como el Parkinson, la diabetes tipo 2 o el cáncer.”

Para hablarnos de todo ello contamos con la presencia de la Dra. Patricia Boya que dirige el grupo que estudia las “funciones de la autofagia en la fisiopatología de los organismos” en el Centro de Investigaciones Biológicas del CSIC en Madrid. Tiene la palabra la Dra. Boya.

Autofagia: el sistema de reciclaje y defensa celular que tienen todas nuestras células

Patricia Boya

¹ Centro de Investigaciones Biológicas

ABSTRACT: The Nobel Prize in Physiology and Medicine of this year 2016 has been awarded to Yoshinori Ohsumi for the discovery of the molecular basis of autophagy, a mechanism present in all eukaryotic cells that allows the degradation and recycling of intracellular components. By studying the baking yeast *Saccharomyces cerevisiae*, he discovered the genes that regulate this process. Today we know the vital importance of autophagy in the physiology of all eukaryotes. Thanks to the discovery of the *Atg* genes, it has been possible to genetically manipulate the process of autophagy and observe the consequences for the proper functioning of the cells in different tissues. In addition, alterations in the autophagy process have been observed in many pathological conditions such as diabetes, neurodegeneration, cancer and infectious diseases. Better understanding of this process is essential to try to find new therapies to treat human diseases.

RESUMEN: El premio Nobel de Fisiología y Medicina de este año 2016 ha recaído en Yoshinori Ohsumi del Instituto Tecnológico de Tokio, Japón, por descubrir las bases moleculares del proceso de autofagia, un mecanismo que poseen todas las células eucariotas y que permite la degradación y reciclaje de los componentes celulares. Las investigaciones de este científico en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* permitieron descubrir los genes que regulan este proceso esencial para el correcto funcionamiento celular. Hoy en día sabemos de la importancia vital de la autofagia en la fisiología de todos los eucariotas. Gracias a conocer los reguladores moleculares se ha podido manipular el proceso de autofagia y observar las consecuencias para el funcionamiento de las células en los diferentes tejidos. Además se han observado alteraciones del proceso de autofagia en numerosas patologías como la diabetes, el cáncer y las enfermedades infecciosas. Entender mejor este proceso es esencial para intentar buscar nuevas terapias para tratar las enfermedades humanas.

Corresponding Author: pboya@cib.csic.es

An Real Acad Farm Vol. 82, N° 4 (2016), pp. 445-452

INTRODUCCIÓN

Las células eucariotas, es decir, con núcleo diferenciado donde reside el material genético o ADN, tienen la capacidad de controlar su propio crecimiento. Así, cuando disponen de nutrientes suficientes y las condiciones ambientales (tejido que las rodea dentro de un organismo pluricelular, agua o suelo en el que residen o medio de cultivo en el laboratorio) son idóneas para su crecimiento, las células activan los procesos de división celular y crecen, tanto en tamaño como en número, para dar lugar a nuevas células hijas. Por el contrario, cuando las células son expuestas a estrés de tipo nutricional (falta de nutrientes), mecánico (presión ejercida sobre la célula), térmico (altas o bajas temperaturas), u oxidativo (desequilibrio en los niveles de agentes oxidantes celulares, derivado de una mala detoxificación celular o de la imposibilidad de reparar los daños producidos por dichos agentes), rápidamente frenan su crecimiento y división con la intención de evitar el daño celular, lo cual podría ser muy perjudicial para la supervivencia de la propia célula y/o del organismo del que forman parte. Esta homeostasis o equilibrio celular está cuidadosamente controlada por un complicado sistema de señalización dentro de la célula. El complejo proteico más importante

dentro de dicho sistema es el complejo mTORC1, el cual percibe los niveles de estrés y decide, mediante la regulación del funcionamiento de otras vías en la célula, si ésta debe frenar su proliferación o puede continuar dividiéndose (**Figura 1**). Una de esas vías celulares controladas por mTORC1 es la vía de autofagia.

Autofagia significa "comerse a sí mismo", y es el proceso por el que las células degradan sus propios componentes cuando no hay suficientes nutrientes para el correcto funcionamiento celular o cuando dichos componentes se dañan a causa de un determinado estrés (1). Por ejemplo, los agentes oxidantes que se forman en la célula y que no son correctamente eliminados pueden producir mutaciones en el ADN que, si no se reparan debidamente, pueden dar lugar a la generación de un cáncer. Por lo tanto la autofagia, además de tener un papel metabólico en respuesta a la escasez de nutrientes, es un importante mecanismo de control de la calidad intracelular. Por este motivo, la vía de autofagia es esencial en nuestras células y, como consecuencia, en nuestro organismo (1).

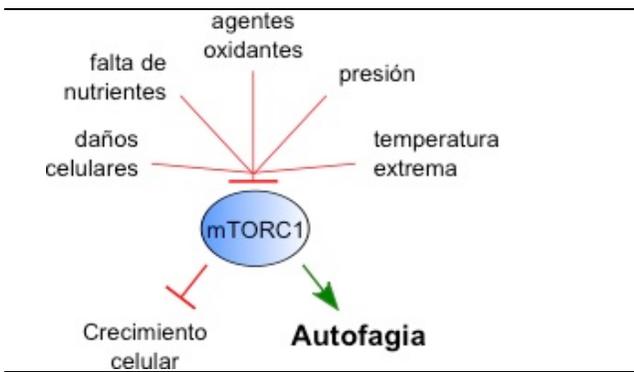


Figura 1. La autofagia se activa en condiciones de estrés celular.

UNA APROXIMACIÓN BÁSICA A LA VÍA DE AUTOFAGIA

La autofagia está controlada por los genes *Atg* (de la palabra autofagia) de los que a día de hoy se conocen más de treinta. Cada una de las proteína codificadas por estos

genes participa en diferentes pasos dentro de la vía de autofagia. Durante la fase de inducción se forma una membrana lipídica doble que se extiende hasta cerrarse generando un compartimento llamado "autofagosoma" (**Figura 2**). El autofagosoma captura en su interior los componentes dañados, material citoplasmático u orgánulos, que van a ser degradados. Posteriormente, otro compartimento celular denominado "lisosoma" se fusiona al autofagosoma y libera en él enzimas digestivas que serán las responsables de la degradación de todo el material internalizado en el autofagosoma. Dicho material, ya en forma de aminoácidos libres, ácidos grasos o carbohidratos, es finalmente reciclado desde el autolisosoma de vuelta al citoplasma celular, donde puede ser reutilizado para otras funciones. Mediante este mecanismo de reciclaje celular, la célula mantiene su homeostasis metabólica y recicla componentes celulares.

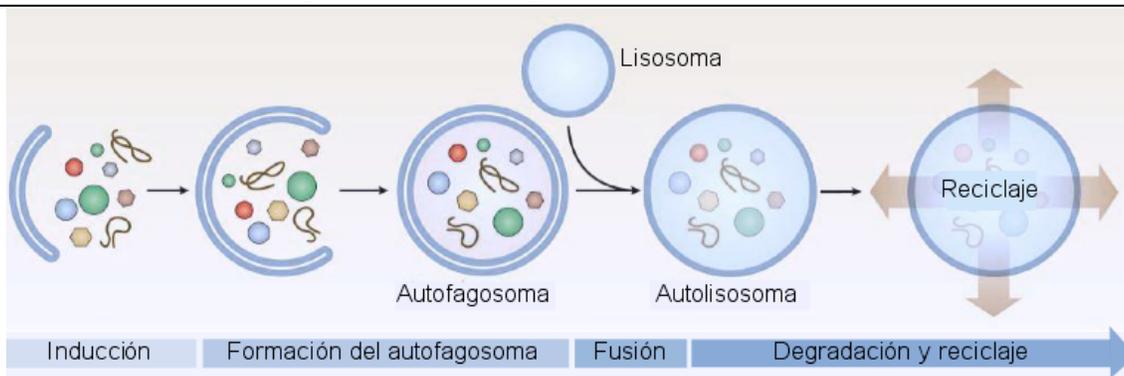


Figura 2. Fases de la autofagia. El autofagosoma atrapa los componentes citoplásmicos que son finalmente degradados en el autolisosoma y reciclados de nuevo al citoplasma celular.

HISTORIA DEL DESCUBRIMIENTO DE LA AUTOFAGIA

El Dr. Yoshinori Ohsumi ha sido galardonado este año con el Premio Nobel de Fisiología y Medicina. Ohsumi fue el primero en descubrir los genes *Atg*, aquellos necesarios para el desarrollo de la autofagia. No obstante, la historia de la autofagia se remonta al año 1955, cuando el científico Christian de Duve, también Premio Nobel en 1974, descubrió los lisosomas estudiando el tejido de hígado de rata gracias a la tecnología de microscopía electrónica (2). Los lisosomas son vesículas, en este caso formadas por una membrana lipídica simple, que contienen enzimas hidrolíticas que actúan a pH ácido y son capaces de degradar prácticamente cualquier molécula en la célula (**Figura 3**, panel izquierdo). Hoy en día, el avance

tecnológico nos ha permitido obtener imágenes mucho más exactas del aspecto del lisosoma, así como de otros orgánulos, dentro de la célula (**Figura 3**, paneles medio y derecho). Siete años más tarde, De Duve acuñó el término "autofagia" al proceso por el que los lisosomas degradan material celular (3). Sin embargo, fueron los científicos Arstila y Trump quienes demostraron, mediante métodos bioquímicos, que es en realidad un compartimento de membrana doble sin enzimas hidrolíticas, el autofagosoma, el que se forma en primera estancia para capturar el material citoplasmático (4). Posteriormente, el compartimento, ahora llamado autolisosoma, pasa a tener una sola membrana y degrada, mediante enzimas lisosomales, el material comprendido en su interior (**Figura 2 y 3**).

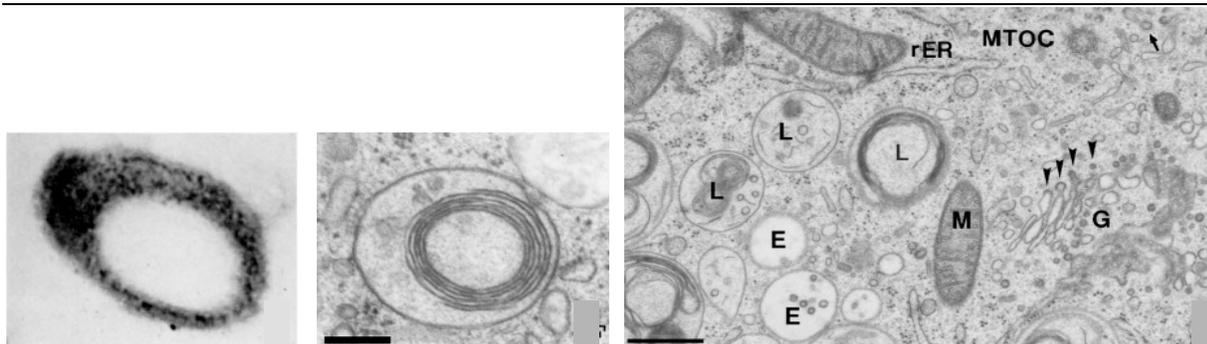


Figura 3. Morfología de los lisosomas. A la izquierda, micrografía electrónica de un lisosoma obtenida por Novikoff y colaboradores, 1956 (5). Se observa una membrana de material denso rodeando una cavidad interna. El panel del medio muestra un lisosoma, visualizado por Murk y colaboradores tras el empleo de la fijación por crioinmovilización y análisis por microscopía electrónica (6). Se aprecia fácilmente el lisosoma de membrana simple con material citoplasmático en su interior, en este caso también membranoso. A la derecha, imagen del mismo trabajo de Murk (6), donde se muestran diferentes orgánulos celulares, entre ellos los lisosomas (L), con diverso contenido citoplasmático.

CONTRIBUCIONES DE Y. OHSUMI AL ESTUDIO DE LA AUTOFAGIA

El Dr. Y. Ohsumi comenzó sus investigaciones sobre la autofagia en la Universidad de Tokio. Su grupo descubrió que el proceso de autofagia no sólo existe en mamíferos sino también en eucariotas unicelulares como las levaduras. El laboratorio del Prof. Ohsumi había generado mutantes de algunas de estas enzimas degradativas de *Saccharomyces cerevisiae*. Ya por entonces se sabía que los niveles y la actividad de estas enzimas aumentaban en

situaciones de ayuno, por lo que Ohsumi hipotetizó que las células deficientes para estas enzimas tendrían que acumular los componentes celulares secuestrados en los autofagosomas. De este modo, Ohsumi observó cómo tras privar a las levaduras de alimento, en su caso nitrógeno, se acumulaban cuerpos esféricos en el citoplasma para posteriormente acabar en la vacuola, orgánulo hermano del lisosoma de mamíferos (7) (**Figura 4**). Ohsumi llamó a dichas esferas "cuerpos autofágicos".

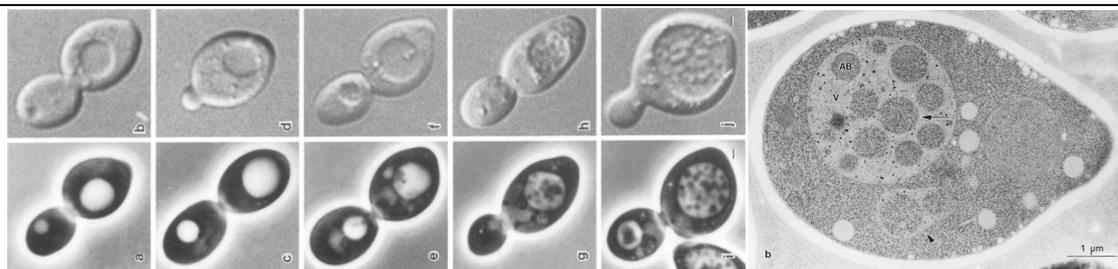


Figura 4. Descubrimiento de la autofagia en levaduras. En el panel de la izquierda se observan cuerpos esféricos acumulándose en la vacuola de levaduras privadas de nitrógeno que carecen de proteasas, o lo que es lo mismo, enzimas que degradan proteínas. A la derecha se muestra una levadura con su vacuola llena de cuerpos autofágicos, los cuales a su vez aparecen repletos de material citoplasmático denso. Imágenes obtenidas del artículo de Takeshige y colaboradores (7).

Una vez que fue capaz de "ver" los autofagosomas, Ohsumi descubrió los genes *atg* al buscar mutantes que no formasen vacuolas autofágicas en situación de ayuno (8). Estos experimentos permitieron encontrar los primeros 15 genes que regulaban el proceso de autofagia, a los que denominaron genes *apg* (de *autophagy*). Todos estos mutantes compartían las mismas alteraciones: no formaban autofagosomas y tenían deficiencias en la degradación de proteínas en situaciones de ayuno. Además no eran capaces de formar esporas, y si se prolongaba el ayuno, morían (8). Estos datos permitieron concluir que la autofagia era una respuesta importante para degradar componentes celulares y mantener la viabilidad en situaciones de privación de nutrientes. En la actualidad estos genes han cambiado de nombre y se llaman genes *atg* seguido de un número. Los quince primeros *atg* son los

mismos 15 genes *apg* que descubrió Yoshinori Ohsumi.

Más tarde, el grupo de Ohsumi confirmó los ensayos bioquímicos previos de Arstila y Trump y publicó la primera evidencia visual de que los autofagosomas, a diferencia de los lisosomas, se componían de una doble membrana (9) (**Figura 5**). De este modo, los cuerpos autofágicos que se encontraban dentro de la vacuola de las levaduras no eran más que el resultado de la fusión entre la membrana externa del autofagosoma y la membrana simple de la vacuola. Como consecuencia, los cuerpos autofágicos previamente descritos son autofagosomas carentes de membrana externa, únicamente formados por una membrana interna simple. Este proceso de fusión de membranas es exactamente igual al que ocurre en células de mamífero entre el autofagosoma y el lisosoma (**Figura 2**).

Cinco años más tarde, el laboratorio del mismo Ohsumi identificó las primeras proteínas involucradas en autofagia en células humanas, demostrando que la vía de autofagia se ha conservado durante toda la evolución, con apenas pequeñas modificaciones desde los eucariotas inferiores (por ejemplo, levaduras) hasta los eucariotas superiores como los animales (10).

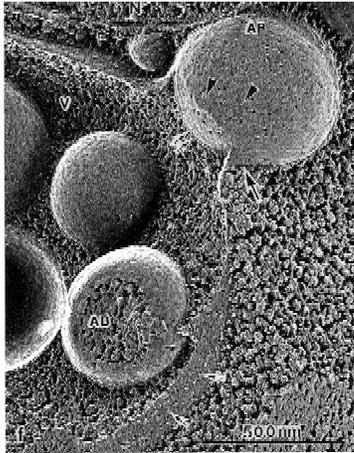


Figura 5. Primera demostración morfológica de que el autofagosoma es un compartimento de doble membrana lipídica. Se observa la fusión entre la membrana externa de un autofagosoma (AP) y la vacuola

(V) en el interior de una levadura. La flecha grande señala la membrana externa del autofagosoma; la doble flecha, su membrana interna. Se observa también un cuerpo autofágico (AB) dentro de la vacuola (9).

LA AUTOFAGIA ES ESENCIAL PARA NUESTRAS CÉLULAS

Todas nuestras celular tienen unos niveles basales de autofagia que se encargan de mantener el citoplasma celular libre de orgánulos que han sufrido daño y proteínas mal plegadas. Esto es particularmente importante en las células posmitóticas (que no se dividen) como las neuronas, donde la “basura celular” no puede ser diluida entre las células hijas en el proceso de división celular. Animales que no tienen autofagia en los precursores neuronales acumulan en el sistema nervioso proteínas dañadas y agregados celulares, lo que tiene importantes consecuencias para el funcionamiento de las mismas (11). Por lo tanto, esta autofagia “basal” es esencial como control de calidad intracelular. Por otro lado, la autofagia se induce a niveles superiores de los basales como consecuencia del estrés celular, lo que permite la supervivencia celular. En la **Figura 6** se resumen las principales funciones de la autofagia.

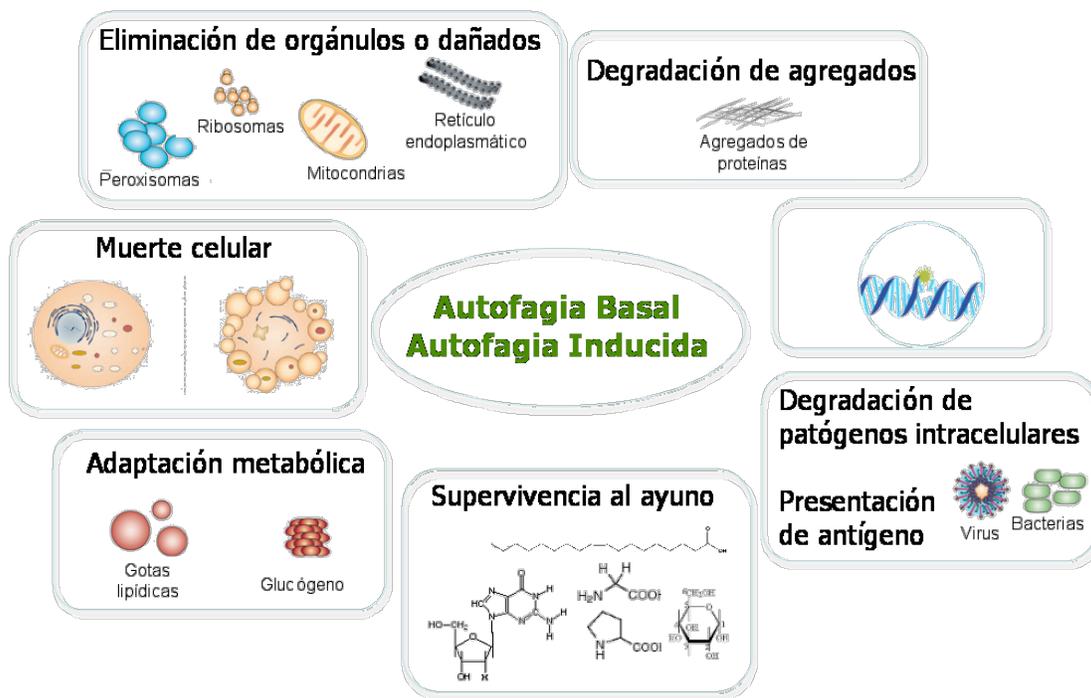


Figura 6: Principales funciones de la autofagia en nuestras células.

La vía de autofagia controla funciones fisiológicas importantes en nuestro cuerpo. Todo proceso llevado a cabo por nuestro organismo que requiera que ciertos componentes celulares se degraden y reciclen están controlados en última instancia por la autofagia. Por

ejemplo, la autofagia contribuye a la diferenciación celular durante el desarrollo embrionario, degrada proteínas y orgánulos dañados durante el envejecimiento celular, elimina bacterias y virus patógenos que invaden nuestras células durante un proceso infeccioso, etc. Defectos en

autofagia se han asociado también a unos niveles aumentados de radicales libres de oxígeno contribuyendo al daño al ADN. Por otro lado, es una importante respuesta a alteraciones metabólicas como el ayuno, degradando por ejemplo gotas lipídicas y glucógeno, participando de manera activa en la supervivencia celular de manera que la inhibición de la autofagia en situaciones de estrés como el ayuno incrementa la muerte celular (12).

Viendo el papel central que juega la autofagia en la homeostasis celular, no es de extrañar que alteraciones en este proceso tengan importantes consecuencias. Sabemos que enfermedades como el cáncer, la diabetes de tipo 2, las enfermedades neurodegenerativas y otros desórdenes relacionados con la vejez, están vinculadas al mal funcionamiento de la autofagia. A continuación describo brevemente el papel de la autofagia en diferentes procesos celulares y enfermedades humanas.

DESARROLLO Y DIFERENCIACIÓN

Como descubrió Oshumi, las levaduras que no poseen

autofagia no pueden generar esporas, y mutaciones en otros organismos como la mosca o el gusano generan también alteraciones importantes en el desarrollo y la diferenciación celular. Muchos de los animales carentes de reguladores de autofagia mueren durante el desarrollo embrionario, por lo que se piensa que este proceso puede jugar un papel esencial en la etapa prenatal.

La autofagia es esencial para la diferenciación de muchos tipos celulares como los eritrocitos (células sanguíneas) y adipocitos (células del tejido graso). En relación al sistema nervioso, se ha observado que los niveles de autofagia de neuronas aumentan durante su diferenciación en cultivo (**Figura 7**). Utilizando el marcador de autofagia LC3 (proteína que se une a las membranas externa e interna de los autofagosomas, aquí mostrada en verde) podemos observar que las neuronas (aquí marcadas en rojo) son las células con niveles mayores de autofagia.

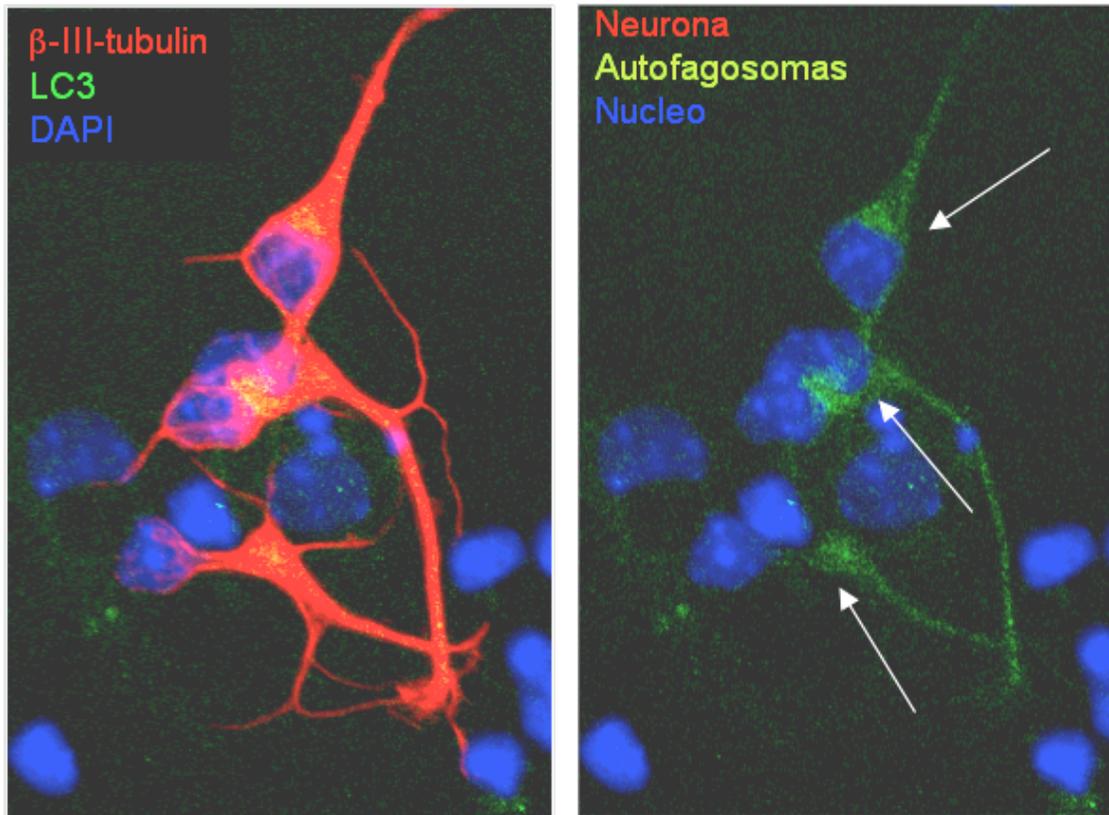


Figura 7: La autofagia aumenta con el proceso de diferenciación celular para generar una neurona. La neuronas maduras expresan el marcador neuronal β-III-tubulina que hemos marcado en rojo en la fotografía de la izquierda. Los núcleos de las células se han teñido de color azul y los autofagosomas con color verde. En la fotografía de la derecha podemos observar que solo las células rojas, las neuronas, se tiñen también de color verde por lo que presentan elevados niveles de autofagia.

Un déficit total de autofagia es incompatible con la vida, por lo que no ha resultado fácil entender el papel de la autofagia en los tejidos adultos. No obstante, la deficiencia del gen *Atg4B* provoca un déficit parcial de autofagia, por lo que los animales llegan a nacer y pueden ser estudiados. Dichos animales no muestran grandes

defectos aparentes, salvo algunos problemas de vértigo por alteraciones en la generación de los otolitos, partículas minerales situadas en el oído (13). Sin embargo, estos animales son más sensibles a situaciones de estrés en tejidos tan diferentes como el intestino, el pulmón y el sistema nervioso. En los últimos años, la generación de

animales únicamente deficientes en la autofagia de algunos de sus tejidos está permitiendo entender el proceso de autofagia en cada uno de los diferentes tipos celulares. La literatura es extensa, y las conclusiones que se pueden extraer de estos modelos son que la autofagia es importante para la correcta función de todos los tejidos estudiados. Las funciones que realiza la autofagia son de control de la calidad celular y mantenimiento del estado metabólico, así como de respuesta protectora frente a las agresiones (14).

AUTOFAGIA Y MUERTE CELULAR

Durante muchos años se pensó que la autofagia era un mecanismo de muerte celular, ya que se observaban autofagosomas en las células que se estaban muriendo. Ello llevó incluso a definir la autofagia como un mecanismo de muerte celular, llamada muerte celular de tipo II en contraposición a la muerte celular de tipo I, más conocida como apoptosis. Sin embargo, en estudios posteriores se ha demostrado que la autofagia es un mecanismo de supervivencia celular y que las células presentaban autofagosomas al activar el proceso como mecanismo citoprotector (12). Hoy en día sabemos que la autofagia se activa bajo numerosas situaciones de estrés para mantener la homeostasis celular. Sin embargo, existen algunas situaciones en las cuales una activación exagerada del proceso, por ejemplo en células cultivadas en el laboratorio o en algunas enfermedades neurodegenerativas, sí puede llegar a inducir muerte celular (15).

ENVEJECIMIENTO CELULAR

Es conocido que el envejecimiento produce alteraciones en las funciones normales de las células, y eso atañe también a la autofagia. Por un lado existen evidencias de que los niveles de algunas proteínas ATG disminuyen con la edad, y por otro lado también sabemos que la actividad de los lisosomas está disminuida en los tejidos envejecidos (16). Como hemos mencionado anteriormente, la autofagia cobra una importancia vital en las células posmitóticas, aquellas que no se dividen, como las neuronas o las células musculares. En estas células los productos tóxicos derivados del metabolismo normal de la célula se acumulan en su interior con el paso del tiempo, ya que no pueden ser divididos entre las células hijas durante el proceso de división celular. Por lo tanto, no es de extrañar que las alteraciones en la autofagia debidas al envejecimiento se manifiesten de manera predominante en el sistema nervioso (11). Nuestros estudios en la retina de animales envejecidos demuestran que, con el paso del tiempo, la retina acumula productos tóxicos y proteínas dañadas debido a una menor actividad de la autofagia. La expresión de los genes *Atg7* y *Becn1*, importantes para la formación del autofagosoma, está disminuida en las retinas de ratones de 2 años de edad (el equivalente a unos 70 años de una persona). Por otro lado, hemos observado que la función de los lisosomas también se encuentra disminuida en estos animales viejos, y que acumulan en su interior lípidos y proteínas que no pueden ser degradados (**Figura 8**). Esos acúmulos van aumentando con el

envejecimiento, lo que provoca que los lisosomas dejen de funcionar correctamente, generándose un círculo vicioso que aumenta con la edad (17).

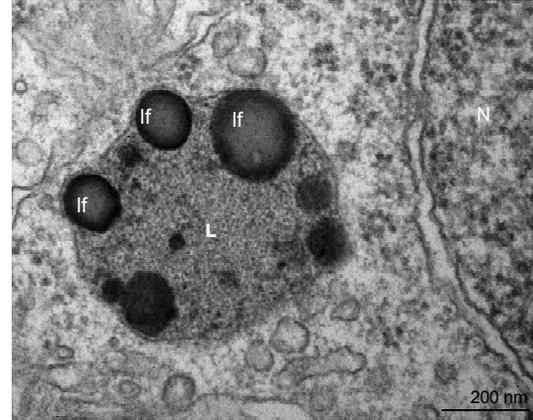


Figura 8: Imagen por microscopía electrónica de un lisosoma (L) en la retina de un animal envejecido de casi dos años de edad, donde se observan los acúmulos de lipofucsina (lf), llamada también el pigmento del envejecimiento.

PAPEL DE LA AUTOFAGIA EN LAS ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

Las enfermedades neurodegenerativas representan un grave problema económico y social, no sólo para los individuos afectados y sus familias, sino para el conjunto de la sociedad. Por lo tanto, la búsqueda de nuevas terapias para estas dolencias es en la actualidad una prioridad. Como hemos mencionado anteriormente, un déficit en autofagia tiene importantes consecuencias para las neuronas, produciéndose el acúmulo de proteínas dañadas y componentes celulares alterados. Estas alteraciones llevan a la muerte neuronal y a fenotipos neurodegenerativos graves (11). Por otro lado, estudios realizados en modelos de proteinopatías (enfermedades neurodegenerativas asociadas a la acumulación aberrante de proteínas mutadas) como la enfermedad de Huntington, así como en modelos murinos de la enfermedad de Parkinson y el glaucoma, han demostrado el efecto beneficioso de aumentar la autofagia con fármacos como la rapamicina (18-20). Por otro lado, también se ha demostrado que en algunas situaciones asociadas a alteraciones en los lisosomas, la inducción farmacológica de la autofagia puede ser perjudicial incrementando el daño y la muerte celular, y se postula que en esas situaciones las terapias deben ir enfocadas a restaurar la función lisosomal (21, 22). Queda aún todavía un largo camino por recorrer, pero sin duda es esencial entender mejor el mecanismo molecular del proceso de autofagia para buscar nuevas dianas terapéuticas para las enfermedades neurodegenerativas.

CÁNCER

Algunos animales deficientes en autofagia tienen mayor incidencia de tumores (23) y se ha demostrado que cierta manipulación genética de ratones genera un defecto en la vía autofágica (24). Del mismo modo, se ha visto que

en muchos tumores humanos la cantidad de determinadas proteínas involucradas en autofagia está enormemente reducida, lo que conlleva a una autofagia ineficiente (25). Esto podría ser debido a que la autofagia, mediante su acción digestiva, limita la posible acumulación de moléculas oncogénicas, como por ejemplo orgánulos en mal estado, agregados proteicos o ADN dañado, que podrían ser tóxicos para la célula y, en última instancia, dar lugar al crecimiento celular tumoral.

Por otro lado, la autofagia también ejerce un papel negativo en la progresión del cáncer, debido a que no sólo conserva la homeostasis de las células sanas, sino que también lo hace en aquellas células que se han transformado de sanas a tumorales. De hecho, las células cancerígenas se encuentran en ambientes poco vascularizados, lo que genera unas condiciones de hipoxia y baja disponibilidad de nutrientes propicias para la activación de la autofagia como mecanismo de supervivencia. A su vez, esta vía puede contrarrestar los efectos tóxicos de ciertos tratamientos quimio- o radioterapéuticos, protegiendo las células que forman los tumores. De esta manera, la autofagia puede ayudar a la supervivencia y progresión de tumores. Una revisión sobre los efectos de la manipulación genética y química de la autofagia en ratones como tratamiento contra el cáncer se puede encontrar en Galluzzi y colaboradores, 2016 (25).

ENFERMEDADES INFECCIOSAS

La autofagia también actúa contra los microorganismos patógenos que invaden nuestras células durante un proceso infeccioso. Por ejemplo, diversos estudios han demostrado que muchas bacterias patógenas intracelulares, como aquellas causantes de la salmonelosis o la tuberculosis, activan la vía de la autofagia en las células que invaden. Esta activación es la respuesta de la célula a modo de defensa, puesto que termina con la degradación de la bacteria dentro del autolisoma, convirtiéndose así la autofagia en un mecanismo de inmunidad celular. Del mismo modo, y como describo arriba, la autofagia también puede evitar el desarrollo de ciertos cánceres causados por la infección de agentes infecciosos tales como el virus del papiloma humano (26). Sin embargo, muchas de estas bacterias son capaces de evitar ser atrapadas en autofagosomas y digeridas en autolisomas mediante complejos mecanismos moleculares que han desarrollado durante la evolución. Hoy en día, los investigadores no sólo buscan nuevos medicamentos capaces de matar a las bacterias que nos infectan sino que tratan de encontrar drogas que induzcan la vía autofágica en nuestras células, y así contrarrestar los mecanismos que emplean las bacterias patógenas para defenderse de ella. Por ejemplo, actualmente se encuentra en estudio la posible terapia contra tuberculosis mediante la aplicación, por vía inhalatoria directa a los pulmones de ratones infectados, de drogas inductoras de autofagia (27).

Pero la lucha célula-patógeno es, aun si cabe, más complicada. Hay bacterias que no sólo se defienden de la degradación por parte de la célula, sino que se aprovechan de la vía autofágica para su propio crecimiento. Este el

caso de bacterias del género *Yersinia*, *Staphylococcus* o *Legionella*, capaces de evitar la fusión del lisosoma al autofagosoma, consiguiendo así crecer dentro del autofagosoma, o incluso de habituarse al contenido ácido del autolisoma y residir en él. Todo esto hace que la lucha antibacteriana mediante el control de la autofagia celular sea un complejo campo de investigación que sólo acaba de comenzar.

Diabetes y enfermedades metabólicas

La prevalencia mundial de trastornos metabólicos es una amenaza inmediata para la salud humana. Las características genéticas, los aspectos ambientales y los cambios en el estilo de vida son los principales factores de riesgo que determinan la disfunción metabólica en nuestro cuerpo. Recientemente, evidencias en la literatura han demostrado que los defectos de la maquinaria autofágica se asocian con disfunción de múltiples tejidos metabólicos, incluyendo células β pancreáticas, hígado, tejido adiposo y músculo, y están implicados en trastornos metabólicos como la obesidad y la resistencia a la insulina. La mayoría de los datos sugieren que la autofagia puede ser un mecanismo protector contra la disfunción y la muerte de las células β pancreáticas (28). Sin embargo, el mecanismo preciso de la regulación autofágica y su mecanismo protector contra la muerte celular aún no han sido aclarados. Identificar el papel de la autofagia en la supervivencia o muerte celular durante la progresión a la diabetes es una tarea importante para los investigadores en este campo. Además, el desarrollo de técnicas que permitan la manipulación de la autofagia debería tener un impacto significativo en el desarrollo futuro de abordajes terapéuticos de la diabetes (29).

Dentro de los retos que existen hoy en día en el campo de la autofagia cabe destacar que tenemos que seguir indagando en los mecanismos moleculares que la controlan, con la idea de poder modularla de manera específica en determinados tipos celulares y de ser capaces de hacerlo de manera transitoria y controlada. No cabe duda de que en los próximos años seguiremos viendo un crecimiento de los conocimientos del proceso celular de autofagia..

REFERENCIAS

1. Boya P, Reggiori F, Codogno P. Emerging regulation and functions of autophagy. *Nat Cell Biol.* 2013 Jul 1;15(7):713-20.
2. De Duve C, Pressman BC, Gianetto R, Wattiaux R, Appelmans F. Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat-liver tissue. *Biochem J.* 1955 Aug;60(4):604-17.
3. de Duve C. Lysosomes revisited. *Eur J Biochem.* 1983 Dec 15;137(3):391-7.
4. Arstila AU, Trump BF. Studies on cellular autophagocytosis. The formation of autophagic vacuoles in the liver after glucagon administration. *Am J Pathol.* 1968 Nov;53(5):687-733.
5. Novikoff AB, Beaufay H, De Duve C. Electron

- microscopy of lysosomeric fractions from rat liver. *J Biophys Biochem Cytol.* 1956 Jul 25;2(4 Suppl):179-84.
6. Murk JL, Posthuma G, Koster AJ, Geuze HJ, Verkleij AJ, Kleijmeer MJ, et al. Influence of aldehyde fixation on the morphology of endosomes and lysosomes: quantitative analysis and electron tomography. *J Microsc.* 2003 Oct;212(Pt 1):81-90.
 7. Takeshige K, Baba M, Tsuboi S, Noda T, Ohsumi Y. Autophagy in yeast demonstrated with proteinase-deficient mutants and conditions for its induction. *J Cell Biol.* 1992 Oct;119(2):301-11.
 8. Tsukada M, Ohsumi Y. Isolation and characterization of autophagy-defective mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett.* 1993 Oct 25;333(1-2):169-74.
 9. Baba M, Osumi M, Ohsumi Y. Analysis of the membrane structures involved in autophagy in yeast by freeze-replica method. *Cell Struct Funct.* 1995 Dec;20(6):465-71.
 10. Mizushima N, Noda T, Yoshimori T, Tanaka Y, Ishii T, George MD, et al. A protein conjugation system essential for autophagy. *Nature.* 1998 Sep 24;395(6700):395-8.
 11. Hara T, Nakamura K, Matsui M, Yamamoto A, Nakahara Y, Suzuki-Migishima R, et al. Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice. *Nature.* 2006 Jun 15;441(7095):885-9.
 12. Boya P, Gonzalez-Polo RA, Casares N, Perfettini J, Dessen P, Larochette N, et al. Inhibition of macroautophagy triggers apoptosis. *Mol Cell Biol.* 2005;25(3):1025-40.
 13. Mariño G, Fernández AF, Cabrera S, Lundberg YW, Cabanillas R, Rodríguez F, et al. Autophagy is essential for mouse sense of balance. *J Clin Invest.* 2010 July 1;120(7):2331-44.
 14. Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell.* 2008 Jan 11;132(1):27-42.
 15. Denton D, Nicolson S, Kumar S. Cell death by autophagy: facts and apparent artefacts. *Cell Death Differ.* 2012 2011/11/05;19(1):87-95.
 16. Gomez-Sintes R, Ledesma MD, Boya P. Lysosomal cell death mechanisms in aging. *Ageing Res Rev.* 2016 Mar 3.
 17. Rodriguez-Muela N, Koga H, Garcia-Ledo L, de la Villa P, de la Rosa EJ, Cuervo AM, et al. Balance between autophagic pathways preserves retinal homeostasis. *Aging Cell.* 2013 Jun;12(3):478-88.
 18. Ravikumar B, Vacher C, Berger Z, Davies JE, Luo S, Oroz LG, et al. Inhibition of mTOR induces autophagy and reduces toxicity of polyglutamine expansions in fly and mouse models of Huntington disease. *Nat Genet.* 2004 Jun;36(6):585-95.
 19. Dehay B, Bove J, Rodriguez-Muela N, Perier C, Recasens A, Boya P, et al. Pathogenic lysosomal depletion in Parkinson's disease. *J Neurosci.* 2010 Sep 15;30(37):12535-44.
 20. Rodriguez-Muela N, Germain F, Marino G, Fitze PS, Boya P. Autophagy promotes survival of retinal ganglion cells after optic nerve axotomy in mice. *Cell Death Differ.* 2012 Jun 24;19(1):162-9.
 21. Rodriguez-Muela N, Hernandez-Pinto AM, Serrano-Puebla A, Garcia-Ledo L, Latorre SH, de la Rosa EJ, et al. Lysosomal membrane permeabilization and autophagy blockade contribute to photoreceptor cell death in a mouse model of retinitis pigmentosa. *Cell Death Differ.* 2015 Mar;22(3):476-87.
 22. Serrano-Puebla A, Boya P. Lysosomal membrane permeabilization in cell death: new evidence and implications for health and disease. *Ann N Y Acad Sci.* 2015 Nov 24.
 23. Liang XH, Jackson S, Seaman M, Brown K, Kempkes B, Hibshoosh H, et al. Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1. *Nature.* 1999 Dec 9;402(6762):672-6.
 24. Takamura A, Komatsu M, Hara T, Sakamoto A, Kishi C, Waguri S, et al. Autophagy-deficient mice develop multiple liver tumors. *Genes Dev.* 2011 Apr 15;25(8):795-800.
 25. Tang H, Sebti S, Titone R, Zhou Y, Isidoro C, Ross TS, et al. Decreased BECN1 mRNA Expression in Human Breast Cancer is Associated with Estrogen Receptor-Negative Subtypes and Poor Prognosis. *EBioMedicine.* 2015 Mar;2(3):255-63.
 26. Griffin LM, Cicchini L, Pyeon D. Human papillomavirus infection is inhibited by host autophagy in primary human keratinocytes. *Virology.* 2013 Mar 1;437(1):12-9.
 27. Gupta A, Misra A, Deretic V. Targeted pulmonary delivery of inducers of host macrophage autophagy as a potential host-directed chemotherapy of tuberculosis. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016 Jul 1;102:10-20.
 28. Bartolome A, Guillen C, Benito M. Autophagy plays a protective role in endoplasmic reticulum stress-mediated pancreatic beta cell death. *Autophagy.* 2012 Dec;8(12):1757-68.
 29. Stienstra R, Haim Y, Riahi Y, Netea M, Rudich A, Leibowitz G. Autophagy in adipose tissue and the beta cell: implications for obesity and diabetes. *Diabetologia.* 2014 Aug;57(8):1505-16.

Premio Nobel en Química 2016

Juan-Ramón Lacadena Calero

El 5 de octubre de 2016, la Real Academia de Ciencias de Suecia decidió otorgar el Premio Nobel en Química 2016 a Jean-Pierre Sauvage (Universidad de Estrasburgo, Francia), a Sir J. Fraser Stoddart (Northwestern University, Evanston, IL, USA) y a Bernard L. Feringa (Universidad de Groningen, Holanda) “por el diseño y síntesis de máquinas moleculares”.

Como señalaba la nota de prensa de la institución, ellos desarrollaron las máquinas más pequeñas del mundo. El primer paso hacia la síntesis de máquinas moleculares lo dio el Dr. Sauvage en 1983 al conseguir concatenar dos moléculas anulares formando un *catenano*. Un segundo paso lo dio en 1991 Sir J. Fraser Stoddart al sintetizar el *rotaxano* consistente en una molécula en anillo enhebrada sobre una molécula lineal sobre la que se desplazaba a modo de eje o cardán. Los rotaxanos han permitido construir ascensores diminutos y músculos moleculares. Finalmente, en 1999 Bernard Feringa desarrolló un motor molecular consistente en una paleta de rotor que se desplaza continuamente en la misma dirección.

Para exponer lo que significan las investigaciones premiadas, nadie mejor que el Prof. Dr. Tomás Torres Cebada que tiene la palabra.

Las “nanomáquinas” se crecen con el Nobel de Química 2016

Tomás Torres Cebada

Corresponding Author: tomas.torres@uam.es

An Real Acad Farm Vol. 82, N° 4 (2016), pp. 454-459

1. INTRODUCCIÓN

Los científicos Jean Pierre Sauvage, de la Universidad de Estrasburgo (Francia), James Fraser Stoddart, de la Universidad de Northwestern (EEUU) y Bernard L. Feringa, de la Universidad de Groningen (Holanda) (**Figura 1**) han sido galardonados con el Premio Nobel de Química 2016 por “*el diseño y la síntesis de las máquinas*

moleculares”. Con ello la química alcanza realmente *una nueva dimensión*, y no de una forma figurada, sino de una forma real. Los ahora premiados han desarrollado sistemas moleculares con movimientos controlables, que son capaces de realizar una tarea cuando se les proporciona energía, en definitiva, han fabricado “*las máquinas más pequeñas del mundo*”.



Figura 1. Jean Pierre Sauvage, James Fraser Stoddart y Bernard L. Feringa.

La conferencia de Richard Feynman, en 1959, en la Sociedad Americana de Física, que ha pasado a la historia como el punto de partida de la nanotecnología y su famoso: “*There's Plenty of Room at the Bottom*” (*Hay mucho sitio al fondo*), con el que la tituló, toman cuerpo, en el área de la química, a través de este reconocimiento. Feynman destacó entonces las grandes posibilidades que ofrecían la investigación y manipulación del mundo micro- y nanoscópico, y atizó la posibilidad de la manipulación directa de los átomos como una forma más potente de química sintética que la utilizada en el momento.

La construcción de estas máquinas moleculares se basa en la comprensión y el conocimiento de las fuerzas intermoleculares débiles, que caracterizan la química supramolecular. Interacciones tales como el enlace por puentes de hidrógeno, transferencia de carga y fuerzas de Van der Waals han sido usadas para organizar y dirigir el ensamblado de sistemas moleculares. El creciente interés en la química supramolecular, después de la concesión del premio Nobel de Química en 1987 a Donald J. Cram, Jean-Marie Lehn y Charles J. Pedersen “*por el desarrollo y el uso de moléculas con interacciones específicas de alta selectividad*”, ha estimulado la investigación en este área. La química supramolecular o la química más allá de la molécula, como definió Jean-Marie Lehn, está basada en el estudio de las interacciones intermoleculares no covalentes y cubre tanto aspectos estáticos, como el reconocimiento molecular, como dinámicos, por ejemplo los fenómenos de extracción y transporte selectivo a través de membranas.

2. MÁQUINAS A ESCALA MOLECULAR

Dentro de este marco, los galardonados han extendido el concepto de máquina macroscópica a escala molecular. Una “máquina a escala molecular” puede definirse como el ensamblado de un número dado de componentes moleculares que han sido diseñados para realizar movimientos mecánicos (output) como resultado de una estimulación externa apropiada (input). Las máquinas moleculares también pueden definirse como un subconjunto de dispositivos moleculares (sistemas moleculares funcionales) en el que algún estímulo desencadena un movimiento mecánico controlado de un componente con relación a otro (o de un sustrato respecto a la máquina) que resulta en la realización de una tarea neta.

Al igual que sus equivalentes macroscópicos, una máquina molecular se caracteriza por el tipo de energía suministrada para hacerla trabajar, la naturaleza de los movimientos de sus componentes, el modo en que su funcionamiento puede ser monitorizado y controlado, la capacidad para hacer que repita su funcionamiento de una forma cíclica, la escala de tiempos necesaria para realizar un ciclo completo de movimientos, y el propósito de este funcionamiento. Sin duda, la mejor energía de entrada para hacer trabajar las máquinas moleculares son los fotones y los electrones. Verdaderamente, con reacciones químicas debidamente escogidas, controladas de manera fotoquímica y electroquímica, es posible diseñar y sintetizar máquinas moleculares que produzcan un trabajo.

2.1. ¿Para qué hacer máquinas a escala molecular?

Las máquinas moleculares desempeñan un papel crucial en prácticamente todos los **procesos biológicos relevantes**. Por ejemplo, la ATP sintasa es la enzima universal que fabrica ATP a partir de ADP y fosfato mediante el uso de la energía derivada de un gradiente de protones a través de la membrana. También puede revertirse e hidrolizar ATP para bombear protones contra un gradiente electroquímico. La ATP sintasa lleva a cabo tanto su ciclo sintético como hidrolítico por un mecanismo rotatorio y representa el motor rotatorio más pequeño del mundo.

2.2. Efectos de la escala en el movimiento

El número de Reynolds (R) es un número adimensional utilizado, entre otras cosas, para caracterizar el movimiento en un fluido, y se puede definir como la relación entre las fuerzas inerciales y las fuerzas viscosas presentes en éste. R relaciona la densidad (ρ), viscosidad (μ), velocidad (v) y dimensión (a) de un objeto en un flujo.

$$R = av \frac{\rho}{\eta}$$

A nivel macroscópico (un nadador, un pez) ($\geq 10^{-3}$ m), $R > 100$ domina el término inercial (mv) y las fuerzas de viscosidad tienen una importancia variable. Sin embargo a nivel bacteriano (10^{-5} - 10^{-7} m), $R \approx 10$ las fuerzas de viscosidad empiezan a dominar y el término inercial no es importante. Pues bien, a nivel molecular (nanomundo) ($< 10^{-7}$ m), $R \ll 10$ el término inercial es completamente negligible e impera el Movimiento Browniano (Ruido térmico) (2). A este nivel se requieren nuevos mecanismos para describir el movimiento.

Una partícula suficientemente pequeña como un grano de polen, inmersa en un líquido, presenta un movimiento aleatorio, observado primeramente por el botánico Brown en el siglo XIX. El movimiento browniano pone de manifiesto las fluctuaciones estadísticas que ocurren en un sistema en equilibrio térmico. Tienen interés práctico, porque las fluctuaciones explican el denominado "ruido" que impone limitaciones a la exactitud de las medidas físicas delicadas. El movimiento browniano puede explicarse a escala molecular por una serie de colisiones en una dimensión en la cual, pequeñas partículas (denominadas térmicas) experimentan choques con una partícula mayor.

Una típico motor de proteína consume 100-1000 moléculas de ATP por segundo (10^{-16} - 10^{-17} W), pero sufre los embates de moléculas de agua a temperatura ambiente equivalentes a 10^{-8} W. Esto es como moverse dentro de un huracán!! Entonces, ¿cómo funcionan estas máquinas? Las máquinas moleculares no utilizan la energía para generar movimiento, pero si lo hacen para **rectificar el movimiento browniano**, ya presente.....

Debido a la enorme importancia del movimiento browniano, en cualquier sistema molecular donde $T > 0$ K,

producir un movimiento controlado tiene más que ver con el control que con la producción (3).

En definitiva, algunas de los aspectos que afectan el diseño de la maquinaria molecular serían los siguientes:

- El cambio en las fuerzas predominantes que gobiernan el nanomundo **imposibilita una extrapolación** del diseño y las funciones de las máquinas macroscópicas.
- Se requiere una fuente de energía (Segunda Ley).
- La energía no se consume para generar movimiento, sino para rectificar el movimiento browniano.
- Para simplificar el problema de la rectificación, se hace necesario restringir los grados de libertad de la máquina molecular.
- Los mecanismos de trabajo de las máquinas moleculares de la naturaleza se basan en la modulación de la fortaleza de fuerzas débiles no covalentes.
- Las máquinas moleculares biológicas trabajan siempre alejándose del equilibrio.

3. CONSTRUCCIÓN DE MÁQUINAS A ESCALA MOLECULAR

Dos importantes avances de la tecnología han demostrado ser particularmente útiles para abordar el complejo desafío de la construcción de máquinas a escala molecular. El primero de ellos consiste en el **"entrelazamiento topológico"** o las llamadas **"uniones mecánicas"**, mientras que la segunda estrategia se basa en los **"enlaces insaturados isomerizables"** o "molecular switches". Ambos avances han dado lugar a una amplia gama de estructuras complejas con funciones similares a las de una máquina.

3.1. Restricción de movimiento a través del entrelazamiento topológico. Uniones mecánicas

Una parte sustancial de los progresos realizados en la maquinaria molecular tiene sus raíces en la aparición de sistemas moleculares entrelazados por uniones mecánicas. En tales sistemas, las partes individuales no están directamente conectadas ni unidas por enlaces covalentes, pero están inseparablemente entrelazadas a través de, por ejemplo, bucles y tapones (**Figura 2**).

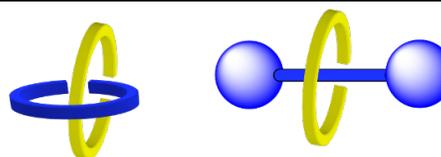


Figura 2. a) [2]catenano; b) [2]rotaxano.

Las partes individuales pueden en principio moverse libremente una respecto a la otra, a pesar de que están confinadas en el espacio debido a sus interconexiones mecánicas mutuas, lo que resulta en estructuras moleculares discretas.

Ambos, catenanos, basados en dos anillos entrelazados, y rotaxanos, basados en un anillo roscado sobre un eje con tapones en cada extremo, se propusieron y sintetizaron en

los años sesenta.

El desarrollo en esta área resultó en una mejor comprensión de los principios necesarios para la formación catenanos y rotaxanos. Sin embargo, a principios de los ochenta el área sufrió un gran avance cuando Jean-Pierre Sauvage introdujo la síntesis con plantilla como una ruta directa para la preparación de catenanos y rotaxanos (4) (**Figura 3**). De esta manera los rendimientos globales pudieron incrementarse drásticamente. La estrategia de síntesis se basa en la coordinación de dos unidades de fenantrolina a un átomo

de Cu (I) (5). De ese modo se consigue un ángulo diedro adecuado entre los componentes que interactúan. En un resto de fenantrolina se introdujo en una unidad macrocíclica de éter-corona y en el otro un fragmento de forma de media luna. El ensamblamiento de los dos componentes en presencia de Cu (I) dio lugar a un complejo con funciones fenólicas perfectamente direccionadas que favorecían el posterior cierre del ciclo por reacción con un diyododerivado. Por último, la eliminación del ion metálico produce el [2] catenano libre.

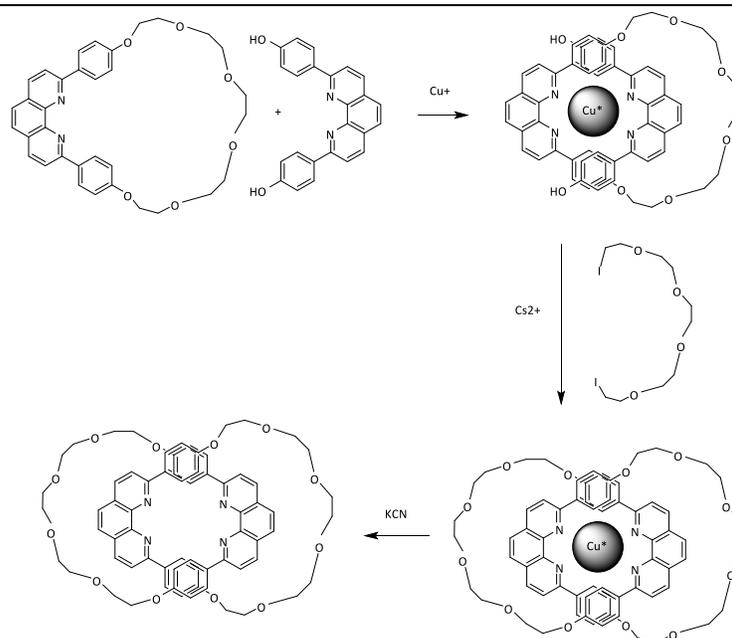


Figura 3. Síntesis con plantilla de un catenano.

Este descubrimiento marcó un verdadero avance en el área de la maquinaria molecular. Sauvage (6, 7, 8) fue capaz de demostrar posteriormente el potencial de estas estructuras en el denominado isomerismo translacional (9).

El campo dio otro gran salto adelante a principios de los noventa, cuando un claro ejemplo de isomería translacional fue descrito por el grupo de Fraser Stoddart (10). Para ello utilizaron interacciones entre entidades aromáticas ricas en electrones y otras de carácter deficiente. Estos estudios resultaron en el desarrollo de una estructura de paraquat ciclofano (11), que podría ser “enlazada” alrededor de un eje conteniendo dos unidades de hidroquinona distanciadas por un separador. Los extremos del eje fueron bloqueados por grupos voluminosos. De esta manera se obtuvo un [2] rotaxano con un buen rendimiento. El ciclofano-rotaxano resultante podía funcionar como un transportador molecular en el

cual la unidad de paraquat era capaz de moverse entre las dos estaciones derivadas de hidroquinona a lo largo de eje.

Este hecho, junto con la demostración que hizo Sauvage de cambiar de forma reversible un catenano a otro, supuso el inicio de la aplicación de entrelazamiento topológico al desarrollo de la maquinaria molecular.

Posteriormente, los grupos de Sauvage y Stoddart demostraron el movimiento de traslación y rotación controlado externamente en moléculas mecánicamente interconectadas mediante la introducción de asimetría en las estructuras. El grupo de Stoddart (**Figura 4**) introdujo dos unidades dadoras de electrones π diferentes en el eje del rotaxano, en concreto grupos de benzidina y difenol, y pudo demostrar que un anillo de ciclofano bis-paraquat podía moverse entre las dos estaciones tras ciclos electroquímicos de oxidación y reducción o a través de cambios de pH, como fuentes de energía (12).

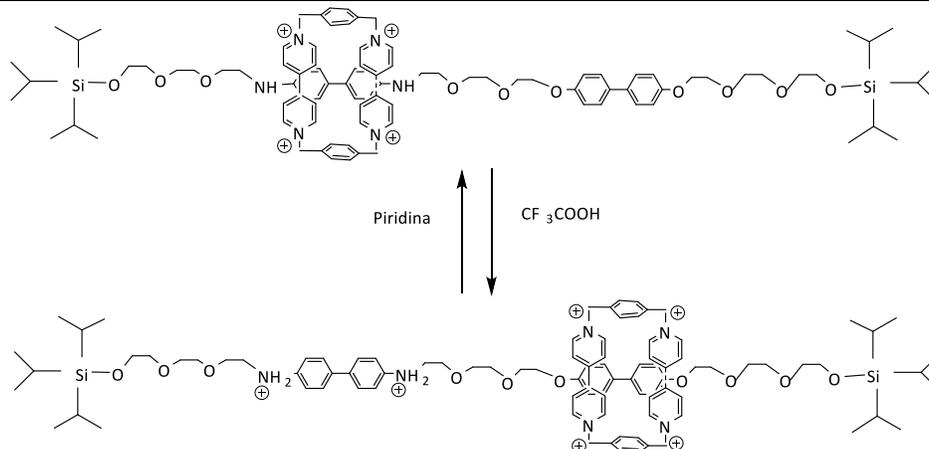


Figura 4. Ejemplo de rotaxano asimétrico.

El grupo Sauvage por su parte diseñó una estructura de catenano con dos sitios de coordinación diferentes en uno de los anillos, en concreto dos unidades de fenantrolina y terpiridina, dejando una única unidad de fenantrolina en el otro anillo (13). La rotación del catenano se producía por ciclos de oxidación y reducción electroquímica del ión de cobre central.

Ya en este siglo, el control químico de la contracción / extensión molecular, que se asemeja a la acción de los músculos en los sistemas vivos, se demostró, por ejemplo, en una estructura de rotaxano topológicamente compleja diseñada por el grupo Sauvage. Al integrar dos funcionalidades de rotaxano mutuamente entrelazadas, se pudo controlar la contracción translacional y la subsiguiente extensión de ca. 2 nm por medio de un estímulo químico (14). Asimismo, actuadores que se asemejaban a músculos, en los que estructuras de rotaxano podían ser controladas para doblar una delgada estructura de un “cantilever” de oro fueron desarrollados por Stoddart (15). Similarmente el mismo grupo desarrolló un dispositivo basado en un rotaxano complejo llamado “elevador molecular” (16).

Por otra parte, el grupo de Stoddart desarrolló dispositivos electrónicos a escala molecular basados en

rotaxanos y catenanos, con la intención de fabricar puertas y memorias de lógica molecular. Estos estudios resultaron en un dispositivo basado en un rotaxano con función de memoria (17). Más recientemente, en 2015, el grupo Stoddart mostró un ejemplo de producción de un gradiente químico usando una estructura de tipo rotaxano (18).

3.2. Restricción de movimiento a través de enlaces insaturados isomerizables

A la vez que se producían los avances basados en estructuras mecánicamente entrelazadas, los denominados “enlaces insaturados isomerizables” también han estado en el centro del progreso de las máquinas moleculares. Esta trayectoria ha sido testigo de una serie de importantes aportaciones. Entre ellas, “la rotación unidireccional controlada” (**Figura 5**) marca un avance fundamental en este desarrollo. El primer ejemplo de rotación unidireccional controlada fue descrito por Feringa en 1999 (19). Este motor estaba basado en enlaces dobles isomerizables. Utilizando alquenos estéricamente impedidos y moléculas quirales fue posible obtener una rotación unidireccional a través de varios ciclos de irradiación de luz y relajación térmica.

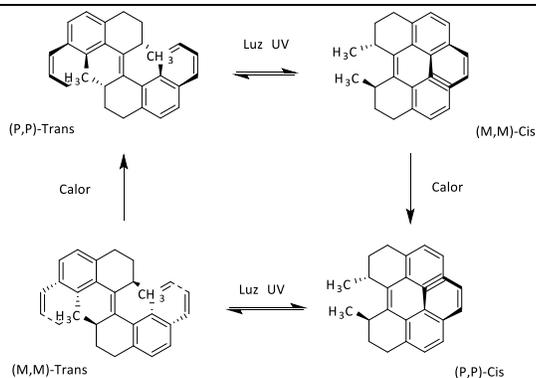


Figura 5. Ejemplo de rotación unidireccional controlada

Este ingenioso diseño representa un salto cualitativo importantísimo en el desarrollo de la maquinaria molecular. Feringa y sus colaboradores abordaron la tarea

fundamental del cambio estructural impulsado por la luz a escala molecular y dieron una solución al desafío del movimiento unidireccional. Durante los años siguientes,

varias generaciones de diseños de motores emanaron del grupo de Feringa, y la frecuencia de rotación se fue aumentando paulatinamente. En 2014, por ejemplo, se demostró que una estructura de motor optimizada giraba con una frecuencia de más de 12 MHz (20). Asimismo, el grupo de Feringa fue capaz de poner en movimiento una estructura de “chasis” compuesta por cuatro motores (a modo de ruedas), que pueden operar en diferentes sentidos de giro, demostrando así la propulsión de un “nanocoche” sobre una superficie (21).



Figura 6. David A. Leigh.

Sin el comité Nobel hubiese podido otorgar un cuarto premio, sin lugar a dudas éste habría sido para David A. Leigh de la Universidad de Manchester (**Figura 6**). Leigh, imitando a los ribosomas, ha desarrollado una síntesis peptídica efectuada por una máquina artificial. Así describió en 2013 (22), el diseño, la síntesis y el funcionamiento de una máquina artificial que moviéndose a lo largo de una cadena molecular, recoge los aminoácidos, particularmente colocados, que bloquean su camino, para sintetizar un péptido con una secuencia específica. La estructura química se basa en un rotaxano, un anillo molecular enhebrado a un eje molecular. El anillo lleva un grupo tiolato que iterativamente “engancha” los aminoácidos en el orden de la cadena y los transfiere sobre el mismo macrociclo para dar lugar a la formación de un péptido. Este proceso genera cantidades de miligramos de un péptido con una secuencia fijada y única, confirmada por espectrometría de masas.

Por otra parte, Leigh ha desarrollado distintos aspectos biomiméticos de las máquinas moleculares. Las proteínas de las familias de actina y de tubulina son capaces de auto-ensamblar formando los filamentos de actina y los microtúbulos respectivamente. Sobre estos filamentos, como si fueran raíles, se mueven las proteínas motoras de las familias de la miosina, quinesina y dineína, un tipo de motores moleculares que convierten la energía química de la hidrólisis del ATP en trabajo mecánico. Estas proteínas motoras son responsables de los mecanismos de la contracción muscular, entre otros. Los “caminantes” biológicos basados en ADN, explotan el apareamiento de bases ortogonales y utilizan reacciones de desplazamiento de cadena para controlar la asociación relativa de las partes componentes, y dar lugar al movimiento. Los “caminantes artificiales” aprovechan la reversibilidad de las interacciones no covalentes débiles, así como la robustez

de los enlaces covalentes dinámicos con el fin de transportar fragmentos moleculares a lo largo de superficies (23, 24, 25).

Leigh (26) ha preparado, una molécula pequeña, doblemente funcionalizada en sus extremos, con dos “pies lábiles” A y B que “andan” repetidamente a lo largo de otra molécula mayor, que hace las veces de ruta molecular, y que consta de cuatro puntos de apoyo (1, 2, 3 y 4) sobre los que se produce el “paseo” (**Figura 7**). Todo ello en respuesta a un entorno químico cambiante. Según se produce el avance de la reacción entre los dos componentes, el proceso de unión va a venir dado por los dos pies o extremos A y B que van a ir moviéndose a través de la ruta 1-2-3-4 dependiendo de las condiciones a que se les someta, ácidas o básicas. El extremo A, un grupo hidrazona, en condiciones ácidas va a ser lábil y tendrá capacidad para cambiar de posición, mientras que en condiciones básicas va a quedar bloqueado. El extremo B, un grupo tiol, se comportará a la inversa. La alternancia de estas condiciones va a permitir que el caminante sea capaz de andar, lo que constituye un motor molecular lineal artificial.

Leigh y sus colaboradores también han conseguido recientemente un nuevo motor que consiste en un 2-catenano, con un pequeño anillo orgánico enroscado en torno a otro anillo mayor por el que puede desplazarse a modo de vía (27). El movimiento se produce por difusión entre dos lugares o estaciones. Grupos protectores extraíbles situados en la pista del anillo principal evitan que el pequeño pueda moverse marcha atrás, obligándolo a difundir siempre hacia adelante. El combustible reacciona para añadir o quitar grupos protectores.

4. CONCLUSIONES

La organización Nobel ha reconocido con el galardón el trabajo de muchos químicos, representados por los tres premiados, que han ayudado con su obra al avance de la nanotecnología. Su objetivo era y es “construir máquinas con las dimensiones de la escala nanométrica”, emulando a elementos presentes en la naturaleza.

- Es importante destacar el papel que en este campo juega la síntesis orgánica. Se han puesto de manifiesto recientemente magníficos ejemplos de desarrollos sintéticos, así como de procesos de autoensamblado y auto-organización que han permitido la construcción de una variedad de máquinas moleculares artificiales.

- Ahora se sabe cómo controlar el movimiento en arquitecturas moleculares, e incluso cómo se puede utilizarlas para realizar algunas funciones básicas.

- El trabajo sinérgico de los químicos, junto con físicos, biólogos farmacéuticos, médicos, ingenieros, etc. arroja luz sobre los mecanismos de trabajo de las máquinas moleculares biológicas y el establecimiento de los principios básicos del diseño de las artificiales.

5. AGRADECIMIENTOS

La fuente principal de estudio para la elaboración de este artículo ha sido el documento “The Nobel Prize in

Chemistry 2016 - Advanced Information". *Nobelprize.org*. © Nobel Media AB 2014. Web. 24 Nov 2016. http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2016/advanced.html, Scientific Background on the Nobel Prize in Chemistry 2016 Molecular Machines compiled by the Class for Chemistry of the Royal Swedish Academy of Sciences by Olof Ramström.

6. REFERENCIAS

1. Feynman RP. There's plenty of room at the bottom. *Eng Sci* 1960; 23: 22-36. *Saturday Rev* 1960; 43: 45-7.
2. Purcell EM. Life at low Reynolds number. *Am J Phys* 1977; 45: 3-11.
3. Astumian RD. Thermodynamics and kinetics of a brownian motor. *Science* 1997; 276 : 917-22.
4. Dietrich-Buchecker CO, Sauvage J-P, Kintzinger JP. Une nouvelle famille de molécules: les métallo-catenanes. *Tetrahedron Lett* 1983; 24: 5095-8.
5. Dietrich-Buchecker CO, Marnot PA, Sauvage J-P. Direct synthesis of disubstituted aromatic polyimine chelates. *Tetrahedron Lett* 1982; 23: 5291-4.
6. Sauvage JP, Weiss J. Synthesis of dicopper(I) [3]catenates: multiring interlocked coordinating systems. *J Am Chem Soc* 1985; 107: 6108-10.
7. Dietrich-Buchecker CO, Sauvage J-P. A synthetic molecular trefoil knot. *Angew Chem Int Ed* 1989; 28: 189-192.
8. Nierengarten J-F, Dietrich-Buchecker CO, Sauvage J-P. Synthesis of a doubly interlocked [2]-catenane. *J Am Chem Soc* 1994; 116: 375-6.
9. Cesario M, Dietrich-Buchecker CO, Guilhem J, Pascard C, Sauvage J-P. Molecular structure of a catenand and its copper(I) catenate: complete rearrangement of the interlocked macrocyclic ligands by complexation. *J Chem Soc Chem Commun* 1985; 244-7.
10. Anelli PL, Spencer N, Stoddart JFA. Molecular shuttle. *J Am Chem Soc* 1991; 113: 5131-3.
11. Odell B, Reddington MV, Slawin AMZ, Spencer N, Stoddart, JF, Williams DJ. Cyclobis(paraquat-p-Phenylene). A tetracationic multipurpose receptor. *Angew Chem Int Ed* 1988; 27: 1547-50.
12. Bissell RA, Córdova E, Kaifer AE, Stoddart JF. A chemically and electrochemically switchable molecular shuttle. *Nature* 1994; 369: 133-7.
13. Livoreil A; Dietrich-Buchecker CO; Sauvage, JP. Electrochemically triggered swinging of a [2]-catenane. *J Am Chem Soc* 1994; 116: 9399-400.
14. Jiménez MC; Dietrich-Buchecker C.; Sauvage J-P. Towards synthetic molecular muscles: contraction and stretching of a linear rotaxane dimer. *Angew Chem Int Ed* 2000; 39: 3284-7.
15. Liu Y, Flood AH, Bonvallet PA, Vignon SA, Northrop BH, Tseng H-R, et al. Linear artificial molecular muscles. *J Am Chem Soc* 2005; 127: 9745-59.
16. Badjić JD, Balzani V, Credi A, Silvi S, Stoddart JFA. Molecular elevator. *Science* 2004; 303: 1845-49.
17. Green JE, Wook Choi J, Boukai A, Bunimovich Y, Johnston-Halperin E, et al. A 160-kilobit molecular electronic memory patterned at 1011 bits per square centimetre. *Nature* 2007; 445: 414-7.
18. Cheng PRS, McGonigal PR, Schneebeli ST, Li H, Vermeulen NA, Ke C, Stoddart JF. An artificial molecular pump. *Nat. Nanotech* 2015; 10: 547-53.
19. Koumura N, Zijlstra RWJ, Van Delden RA, Harada N, Feringa BL. Light-driven monodirectional molecular rotor. *Nature* 1999; 401: 152-5.
20. Vachon, J, Carroll GT, Pollard MM, Mes EM, Brouwer AM, Feringa BL. An ultrafast surface-bound photo-active molecular motor. *Photochem Photobiol Sci* 2014; 13: 241-6.
21. Kudernac T, Ruangsapichat N, Parschau M, Macia B, Katsonis N, Harutyunyan SR, Ernst KH, Feringa BL. Electrically driven directional motion of a four-wheeled molecule on a metal surface. *Nature* 2011; 479: 208-211.
22. Lewandowski B, De Bo G, Ward JW, Pappmeyer M, Kuschel S, Aldegunde MJ, Gramlich PME, Heckmann D, Goldup SM, D'Souza DM, Fernandes AE, Leigh DA. Sequence-specific peptide synthesis by an artificial small-molecule machine. *Science* 2013; 339: 189-93.
23. Von Delius M, Leigh DA. Walking molecules. *Chem Soc Rev* 2011; 40: 3656-76.
24. Pérez EM, Synthetic molecular bipeds. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2011; 50: 3359-61.
25. Leigh DA, Lewandowska U, Lewandowski B, Wilson MR. Synthetic molecular walkers. *Top Curr Chem* 2014; 354: 111-38.
26. von Delius M, Geertsema EM, Leigh DA. Synthetic small molecule that can walk down a track. *Nature Chem.* 2010; 2, 96-101.
27. Wilson MR, Sola J, Carlone A, Goldup SM, Lebrasseur N, Leigh DA. An autonomous chemically fueled small-molecule motor. *Nature* 2016; 534: 235-40.