



Modelamiento De Los Flujos De Metabolitos Cargados En La Membrana Externa Mitocondrial: Generación De Potencial Eléctrico Y Aproximación Al Efecto Crabtree

Modelation Of The Fluxes Of Charged Metabolites In The Outer Mitochondrial Membrane: Generation Of Electric Potential And Approach To The Crabtree Effect

J. C. Quijano *^a

^a Facultad de Ciencias Básicas, Sociales y Humanas, Politécnico Colombiano JIC.

Recibido 02.04.10; Aceptado 19.04.11; Publicado en línea 04.09.11.

Resumen

Diversos metabolitos cargados tales como el ATP^{4-} , ADP^{3-} y Pi^{1-} transitan normalmente entre la mitocondria y el citoplasma. El paso de estos metabolitos por la membrana externa mitocondrial se hace a través de unos canales llamados VDAC (canal para aniones dependiente del voltaje). Las permeabilidades para el ATP^{4-} , ADP^{3-} , Pi^{1-} y otros metabolitos cargados dependen del potencial eléctrico en la membrana externa mitocondrial, pero la existencia de un potencial en esta membrana no ha sido demostrado experimentalmente. En el presente trabajo se desarrolla un modelo computacional de la interacción de los flujos de metabolitos cargados a través de una membrana, obteniendo la generación de potencial eléctrico en ésta a causa de la diferencia en permeabilidad para varios metabolitos cargados modulada por el VDAC. El potencial eléctrico generado resulta ser la intercomunicación entre los flujos y mediante la generación de éste y la característica voltaje dependiente del VDAC, se acerca a una posible explicación del conocido efecto Crabtree a consecuencia del cierre del VDAC para el ATP.

Palabras clave: Modelo Computacional; Potencial Eléctrico; Membrana Externa Mitocondrial; Efecto Crabtree.

Abstract

Different charged metabolites such as ATP^{4-} , ADP^{3-} and Pi^{1-} pass normally between the mitochondria and the cytoplasm. The passage of these metabolites through the outer mitochondrial membrane is done by channels called VDAC (voltage-dependent anion channel). The permeabilities for ATP^{4-} , ADP^{3-} , Pi^{1-} , and other charged metabolites depend on the electrical potential at the outer mitochondrial membrane, but the existence of this membrane potential has not been demonstrated experimentally. In this work, a computational model of the interaction of the fluxes of charged metabolites through a membrane is performed, obtaining the generation of electric potential in it because of the permeability differences to various charged metabolites modulated by VDAC. The electric potential generated results to be the intercommunication between fluxes and through its generation and the characteristic voltage-dependent of VDAC, it approaches a possible explanation to the known Crabtree effect as a consequence of the closure of VDAC to ATP.

Keywords: Computational Model; Electric Potential; Outer Mitochondrial Membrane; Crabtree Effect.

PACS: 87.16.D-; 87.16.Tb.

© 2011 Revista Colombiana de Física. Todos los derechos reservados.

1. Introducción

Los sustratos que necesita y utiliza la mitocondria y todas las sustancias que de ella salen al citoplasma deben cruzar la membrana externa mitocondrial. Una de las principales características de esta membrana es su relativamente alta permeabilidad, la cual se debe principalmente a la presencia de unos canales llamados VDAC formados por una proteína porina [1]. Estos canales poseen la propiedad de ser selectivos para aniones y de tener una permeabilidad que depende del voltaje [2].

Aunque se ha mostrado que los canales VDAC pueden regular eléctricamente el flujo de metabolitos cargados negativamente como el ATP^{4-} en membranas artificiales [3-4], el papel de la membrana externa mitocondrial en la regulación del metabolismo energético no está bien establecido, debido a la complejidad experimental que requiere medir potencial eléctrico en dicha membrana. Es así como los análisis teóricos ayudan a desarrollar metodologías para lograr medidas directas o indirectas del potencial eléctrico en la membrana externa mitocondrial. De manera indirecta, recientemente se evaluó experimentalmente dicho potencial, calculando un voltaje que sería alrededor de los -43 mV [5]. Un análisis teórico posterior postula que si bien es posible la generación de potencial por varios mecanismos, este no debería sobrepasar los -30mV por razones metabólicas, sugiriendo así una sobrestimación en dicho valor [6]. Lo cierto es que la posible generación de potencial eléctrico en la membrana externa mitocondrial haría de ésta una importante reguladora energética y se postula que sería poco sensato que el VDAC convierta a la membrana externa en una simple membrana porosa que no sería capaz de ejercer ninguna regulación para los flujos de metabolitos cargados a través de ella [7].

Una de las teorías sobre la existencia de voltaje en la membrana externa mitocondrial [8-10] propone que la única posibilidad de la existencia de una diferencia de potencial eléctrico en esta membrana sería el potencial Donnan; este potencial eléctrico es debido a la distribución no equitativa de macromoléculas cargadas impermeables a la membrana externa y a la distribución de iones permeables según su equilibrio electroquímico. Otras teorías se basan en mecanismos de estados estacionarios metabólicodependientes en los cuales se postula que el potencial eléctrico en la membrana externa puede ser generado debido a la diferencia en la permeabilidad de la membrana para varios metabolitos cargados [11-13], o como parte del potencial de la membrana interna de la mitocondria aplicado a la membrana externa mitocondrial a través de los sitios de contacto entre éstas [14]. Así, esta membrana podría ser una especie de “aduana” física que separa los procesos metabólicos que ocurren en el citoplasma de los que se presentan en la mitocondria.

Por otro lado, en el metabolismo de las células cancerosas se ha observado un fenómeno interesante de la inhibición de la respiración por la glucosa, llamado efecto Crabtree [15-17]. A este efecto que fue descubierto por Herbert Grace Crabtree en 1928 [18] no se le conoce aún una explicación unificada y completa [19]. En esencia, el efecto aparece cuando se tienen células o mitocondrias aisladas, de origen tumoral, y al suministrarles glucosa el consumo de oxígeno disminuye un alto porcentaje, evidenciando así la inhibición de la respiración. Recientemente fue postulada una explicación que se basa en el modelo para la generación de potencial eléctrico en la membrana externa por la membrana interna [14]. Es conocido que la membrana interna mitocondrial es responsable de la transformación de la energía y que su permeabilidad es altamente selectiva para metabolitos; por otra parte se sugiere que la membrana externa mitocondrial debe ser importante en la regulación del flujo de metabolitos y de energía entre la mitocondria y el citoplasma [13]. Según dicho modelo, al agregar glucosa en las células tumorales se activaría el flujo de $\text{ATP}^{4-}/\text{ADP}^{3-}$, ya que en dichas células se ha encontrado que la Hexoquinasa II, enzima que recibiría la glucosa para transformarla en glucosa-6-fosfato, se encuentra 100 veces más pegada a los sitios de contacto que en células normales (estado tríplex, ANT-VDAC-HK), conduciendo así a la disminución de la resistencia eléctrica a través de los sitios de contacto y por ende al aumento de voltaje en los VDAC, cerrándose así el canal e impidiendo la salida del ATP por éste, lo que se evidenciaría como una inhibición de la respiración.

La existencia de sitios de contacto no siempre se da en todas las células. Para este caso, el modelo de generación de potencial eléctrico en la membrana externa por la membrana interna sería debido a los dúplex VDAC-Hexoquinasa II (VDAC-HK); que de igual manera que para el estado tríplex, al agregar glucosa se activaría el flujo de $\text{ATP}^{4-}/\text{ADP}^{3-}$ por los VDAC que se encuentran con la Hexoquinasa II, haciendo que la resistencia eléctrica conformada por VDAC-HK disminuya y así caería mas voltaje en los VDAC libres haciendo que estos se cierren y que el ATP no pueda salir, mostrándose así la inhibición de la respiración [14]. En estos últimos mecanismos propuestos se hizo un modelado cinético de un sistema con varios aniones; sólo de la generación del potencial sin tener en cuenta los parámetros cinéticos adicionales que se aportarían, involucrando la actividad de la Hexoquinasa II y tampoco se tuvo en cuenta el flujo de ATP y ATP por el VDAC libre en la membrana externa y luego por el intercambiador de adenín nucleótidos en la membrana interna (ANT).

En el presente trabajo se hace una investigación computacional del flujo de metabolitos cargados a través de una membrana, con el ánimo de tener un estudio más detallado acerca de la regulación de dichos flujos por la gene-

ración de potencial eléctrico en la membrana. En este trabajo también se busca ratificar la influencia del potencial eléctrico generado en la membrana externa y su posible contribución a la explicación del efecto Crabtree. La búsqueda de dichas evidencias se realiza a través del modelado cinético de sistemas, muy semejantes al real, descritos por un adecuado conjunto de ecuaciones matemáticas.

2. Modelo Matemático

El modelo computacional de los flujos de metabolitos cargados propuestos para la generación del potencial eléctrico en la membrana externa por intermedio de los dúplex VDAC-HK y su posible contribución a un mecanismo para explicar el efecto Crabtree es un sistema de 20 ecuaciones que describen el sistema que se muestra en la fig. No. 1.

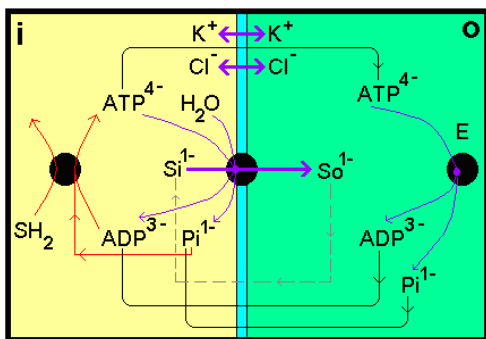


Fig. 1: Modelo del transporte de un anión monovalente acoplado con los flujos de ATP, ADP y Pi a través de una membrana.

Para este sistema de ecuaciones se cuenta con varias constantes entre ellas algunas constantes universales; este grupo de constantes se encuentran en la tabla 1.

Tabla No. 1: Constantes para el sistema.

Constantes generales (símbolo)	Valor
Constante de los gases (R)	0.0083 KJ/(mol*K)
Temperatura (T)	310 K
Constante de Faraday (F)	96.5 KJ/(mol*V)
Constantes de M-M para S ⁻ (K _{mi} , K _{mo})	5 mM
Constante de M-M para el ATP (K _{MATP})	5 mM
Volumen de "i" y "o" (Vol _i y Vol _o)	1 μL
Concentración de ATP inicial (ATP _a)	10 mM
Concentración de ADP inicial (ADP _a)	30 μM
Concentración de Pi inicial (Pi _a)	3 mM

El sistema de ecuaciones tienen en cuenta el transporte de una sustancia cargada, desde el volumen "i" hasta el volumen "o" (de volúmenes iguales), a través de una membrana en contra de su gradiente electroquímico, mediado por un transportador que utiliza la energía libre de la

hidrólisis del compuesto macroérgico ATP (*transporte activo primario*). Se tiene en cuenta la velocidad neta y fuga del anión monovalente S⁻, también que el ATP se gasta en el compartimiento "o" por intermedio de la enzima E y que la relación de las concentraciones de ATP⁴⁻, ADP³⁻ y Pi¹⁻ en el volumen "i" (ATP_i, ADP_i y Pi_i) se mantiene constante en un valor de 9x10⁻⁶ M de acuerdo con las siguientes concentraciones iniciales ATP_a = 10mM, ADP_a = 30μM y Pi_a = 3mM, para estos valores el ΔG₁ = -60.4 KJ/mol. Adicionalmente se cuenta con los flujos a través de la membrana de ATP, ADP y Pi; todo esto se expresa en las ecuaciones (1), (2), (3), (4), (5), (6) y (7).

$$\frac{ADP_i \cdot P_i}{ATP_i} = 9 \times 10^{-6} \quad (1)$$

$$-V_s = \frac{Vm_i \cdot \frac{S_i}{Km_i} - Vm_o \cdot \frac{S_o}{Km_o}}{1 + \frac{S_i}{Km_i} + \frac{S_o}{Km_o}} \quad (2)$$

$$J_s = - \left(\frac{1 \cdot P_s \cdot \Delta\Psi \cdot F}{R \cdot T} \right) \cdot \frac{S_o - S_i \cdot e^{\frac{-1 \cdot \Delta\Psi}{RT}}}{1 - e^{\frac{-1 \cdot \Delta\Psi}{RT}}} \quad (3)$$

$$J_{ATP} = \left(\frac{4 \cdot P_{ATP} \cdot \Delta\Psi \cdot F}{R \cdot T} \right) \cdot \frac{ATP_o - ATP_i \cdot e^{\frac{-4 \cdot \Delta\Psi}{RT}}}{1 - e^{\frac{-4 \cdot \Delta\Psi}{RT}}} \quad (4)$$

$$J_{ADP} = - \left(\frac{3 \cdot P_{ADP} \cdot \Delta\Psi \cdot F}{R \cdot T} \right) \cdot \frac{ADP_o - ADP_i \cdot e^{\frac{-3 \cdot \Delta\Psi}{RT}}}{1 - e^{\frac{-3 \cdot \Delta\Psi}{RT}}} \quad (5)$$

$$J_{Pi} = - \left(\frac{1 \cdot P_{Pi} \cdot \Delta\Psi \cdot F}{R \cdot T} \right) \cdot \frac{Pi_o - Pi_i \cdot e^{\frac{-1 \cdot \Delta\Psi}{RT}}}{1 - e^{\frac{-1 \cdot \Delta\Psi}{RT}}} \quad (6)$$

$$-V_{ATP} = \frac{ATP_o \cdot VmE}{Km_{ATP} + ATP_o} \quad (7)$$

Los flujos que están representados en las ecuaciones (3)-(6) se conocen como flujos de Goldman para el flujo iónico a través de una membrana [20]; éstos suponen que en todo el espesor de la membrana el campo eléctrico es constante y que el movimiento de un ión a través de la membrana es independiente de otros iones. Dichos flujos traen consigo los coeficientes de permeabilidad eléctrica para cada sustancia representada como P_{ATP}, P_{ADP}, P_{Pi} y P_S; estas permeabilidades son dependientes del potencial eléctrico, según las características voltaje-permeabilidad del VDAC donde *a* es el parámetro de sensibilidad del VDAC [11] al voltaje en unidades de V⁻¹ (si el potencial está en voltios) y *B* es la permeabilidad absoluta del VDAC en el estado abierto para S⁻. Así las distintas expresiones están descritas por las ecuaciones (8), (9), (10) y (11).

$$P_{ATP} = 0.2 \cdot (0.02 + 0.98 \cdot e^{-(a \cdot \Delta\Psi)^2}) \quad (8)$$

$$P_{ADP} = 0.5 \cdot (0.07 + 0.93 \cdot e^{-(a \cdot \Delta\Psi)^2}) \quad (9)$$

$$P_{Pi} = 1.0 \cdot (0.10 + 0.90 \cdot e^{-(a \cdot \Delta\Psi)^2}) \quad (10)$$

$$P_S = B \cdot (0.10 + 0.90 \cdot e^{-(a \cdot \Delta\Psi)^2}) \quad (11)$$

Debido a que los sustratos S^- , ATP^{4-} , ADP^{3-} y Pi^{1-} se deben adicionar al sistema en forma de sales de Potasio, es necesario adicionar las concentraciones promedio para S^- , ATP , ADP , Pi , K^+ y Cl^- . Para esto se debe tener en cuenta que en el sistema no se mantiene constante la concentración total del ATP^{4-} , ni del ADP^{3-} , ni del Pi^{1-} , porque continuamente se están produciendo o consumiendo, pero sí se mantiene constante la cantidad de adenín nucleótidos y de fosfatos inorgánicos. La cantidad de adenín nucleótidos viene dada por la suma de las concentraciones de ATP^{4-} y ADP^{3-} , o sea $ATP_a + ADP_a$ (0.01003M) y la cantidad total de fosfatos inorgánicos viene dada por la suma de ATP , ADP y Pi iniciales, o sea $3ATP_a + 2ADP_a + 1Pi_a$ (0.03306M). La concentración promedio de la sustancia S^- se fija arbitrariamente en 0.01M. Todo lo anteriormente mencionado se refleja en las ecuaciones (12), (13) y (14).

$$\frac{ATP_i \cdot Vol_i + ATP_o \cdot Vol_o}{Vol_i + Vol_o} + \frac{ADP_i \cdot Vol_i + ADP \cdot Vol_o}{Vol_i + Vol_o} = 0.01003 \quad (12)$$

$$3 \cdot \frac{ATP_i \cdot Vol_i + ATP_o \cdot Vol_o}{Vol_i + Vol_o} + 2 \cdot \frac{ADP_i \cdot Vol_i + ADP \cdot Vol_o}{Vol_i + Vol_o} + 1 \cdot \frac{Pi_i \cdot Vol_i + Pi_o \cdot Vol_o}{Vol_i + Vol_o} = 0.03306 \quad (13)$$

$$\frac{S_i \cdot Vol_i + S_o \cdot Vol_o}{Vol_i + Vol_o} = 0.01 \quad (14)$$

De esta manera la concentración promedio de K^+ , que debe compensar todas las cargas negativas (ATP^{4-} , ADP^{3-} , Pi^{1-} , Cl^- y S^-) mediante el principio de electroneutralidad, queda en 0.06309M si la concentración de Cl^- en todo el sistema es de 0.01M. Así, también se tiene de nuevo la membrana completamente permeable para el Potasio y el Cloro (K^+ y Cl^-), lo que hace que estos iones se distribuyan según la ecuación de Nernst. Lo anterior está representado en las ecuaciones (15), (16), (17) y (18).

$$\frac{Cl_i \cdot Vol_i + Cl_o \cdot Vol_o}{Vol_i + Vol_o} = 0.01 \quad (15)$$

$$\frac{K_i \cdot Vol_i + K_o \cdot Vol_o}{Vol_i + Vol_o} = 0.06309 \quad (16)$$

$$\Delta\Psi = -\frac{R \cdot T}{F} \cdot \ln\left(\frac{K_i}{K_o}\right) \quad (17)$$

$$\Delta\Psi = \frac{R \cdot T}{F} \cdot \ln\left(\frac{Cl_i}{Cl_o}\right) \quad (18)$$

Como se dilucida de la fig. No. 1, para el sistema se quiere que esta reacción sea reversible, por ende se recurre a la relación de Haldane [21], la cual se presenta en la ecuación (19).

$$\frac{Vm_i \cdot Km_o}{Vm_o \cdot Km_i} = e^{\left(\frac{-\Delta G_i}{RT}\right)} \quad (19)$$

Por último, se debe complacer el principio de electro-neutralidad como se muestra en la ecuación (20).

$$0 = 1 \cdot K_o - 1 \cdot Cl_o - 4 \cdot ATP_o - 3 \cdot ADP_o - 1 \cdot Pi_o - 1 \cdot S_o \quad (20)$$

Así, para alcanzar la situación de estado estacionario entre los dos flujos se debe entonces cumplir las siguientes igualdades $J_{ADP} = J_{Pi} = J_{ATP}$ y $J_S = V_S$. En este orden de ideas, el conjunto de ecuaciones que representa el transporte acoplado del anión S^- de adentro hacia afuera, pasando por una membrana, es el conformado por el sistema de ecuaciones (1)-(20).

3. Resultados y Discusión

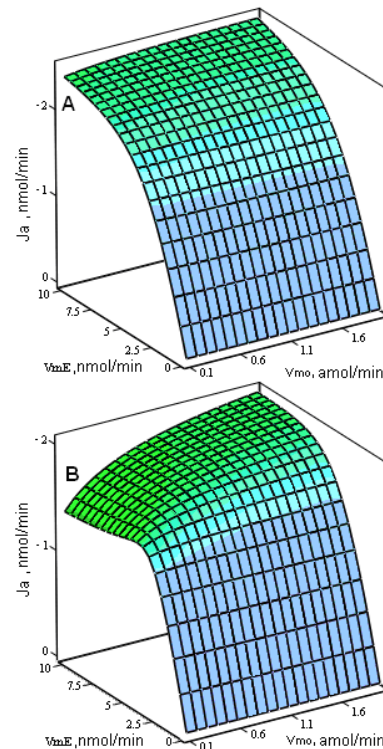


Fig. 2: Dependencia del flujo estacionario J_a con respecto a V_{mE} y a la velocidad máxima de la hidrólisis del ATP en el volumen "o" (actividad de la enzima E) para el transporte de S^- acoplado con los flujos de ATP, ADP y Pi. (A) $a = 100V^{-1}$ (B) $a = 200V^{-1}$.

Para el sistema presentado en la fig. No. 1 se tiene que el flujo estacionario del ATP^{4-} , ADP^{3-} y Pi^{1-} (J_a) y el de la sustancia cargada S^- (J_s), van en la misma dirección, J_a y J_s tienen signo negativo porque van de adentro hacia afuera (“i” a “o”).

De esta manera, el efecto restrictivo que resulta después de un aumento en la sensibilidad del canal VDAC al voltaje (parámetro a) en el flujo estacionario J_a puede ser corroborar con las gráficas presentadas en la fig. No. 2. Como muestra dicha figura, al aumentar la sensibilidad del canal VDAC al voltaje (parámetro a) se obtiene el efecto de limitación en el flujo estacionario J_a como consecuencia de un aumento en el potencial eléctrico en la membrana.

Por otro lado, en la fig. No. 3.B se nota la caída un poco más pronunciada del flujo estacionario J_s para un valor más grande en la sensibilidad del canal VDAC al voltaje. Esta caída en el flujo estacionario J_s se hace más evidente cuando la velocidad máxima de la hidrólisis del ATP en el compartimiento “o” es mayor (actividad de la enzima E). Lo anterior sugiere entonces la existencia de una interacción entre los dos flujos estacionarios (J_a y J_s).

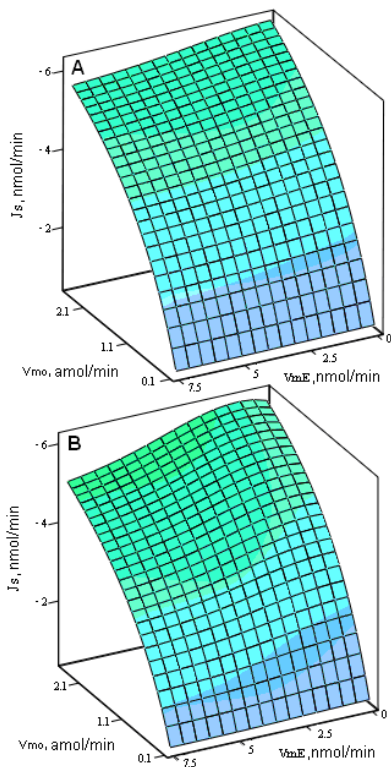


Fig. 3: Dependencia del flujo estacionario J_s con respecto a V_{m0} y a la velocidad máxima de la hidrólisis del ATP en el volumen “o” (actividad de la enzima E) para el transporte de S^- acoplado con los flujos de ATP, ADP y Pi. (A) $a = 100 V^{-1}$ (B) $a = 200 V^{-1}$.

Es así pues que debido al efecto que ejerce el aumento de la sensibilidad del canal VDAC al voltaje (parámetro a)

sobre los flujos estacionarios J_s y J_a y también sobre el potencial eléctrico de membrana que se genera, se procede entonces a dejar un valor fijo de V_{m0} (velocidad máxima de regreso) y se hace un barrido del parámetro a , para observar lo que le sucede a dichos flujos y al potencial eléctrico en la membrana (fig. No. 4).

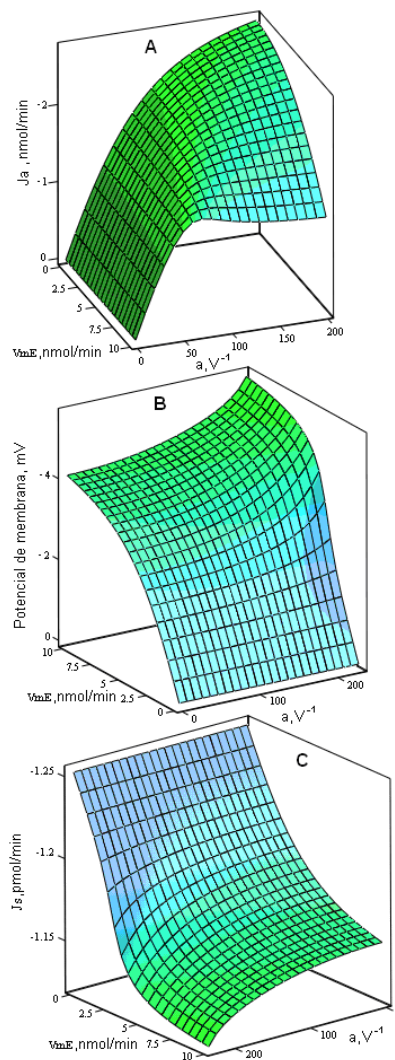


Fig. 4: Dependencia de los parámetros del sistema de transporte de un anión monovalente acoplado con los flujos de ATP, ADP y Pi, con respecto a la sensibilidad al voltaje del VDAC (a) y a la velocidad máxima de la hidrólisis del ATP en el volumen “o” (actividad de la enzima E). (A) J_a . (B) Potencial de membrana. (C) J_s .

El resultado de esto es la restricción del flujo estacionario J_a (fig. No. 4.A) y el aumento en el potencial de membrana (fig. No. 4.B) así como la caída en el flujo estacionario J_s (fig. No. 4.C).

El valor del potencial generado mediante el transporte de la sustancia S^- es suficiente para observar el acopla-

miento entre los dos flujos estacionarios. En general, el potencial eléctrico generado por los flujos J_s y J_a a través de la membrana es el resultado de un efecto sinérgico de la superposición de dos potenciales eléctricos producidos por cada flujo y de la modulación de la permeabilidad del VDAC ocasionado por dicho potencial. Este voltaje es la principal comunicación entre estos flujos y este acoplamiento es un resultado muy importante, ya que con esto se apoya un estudio previo [13] en donde se propone la generación de potencial eléctrico en la membrana externa mitocondrial debido a la diferencia de permeabilidades para sustancias cargadas, en el presente este estudio precisamente se corrobora ello, porque debido a la diferencia propuesta entre las permeabilidades del VDAC para el ATP^4 , ADP^3 , Pi^1 y el anión monovalente S^- , se genera potencial en la membrana.

Con el modelo de generación de potencial en la membrana externa mitocondrial por medio de los dúplex VDAC-HK [13], el sistema de transporte de S^- acoplado con el flujo de ATP^4 , ADP^3 y Pi^1 , se acerca mucho con lo propuesto por dicho modelo. Es así como en este modelo [13] se sugiere que el dúplex VDAC-HK podría funcionar como un generador de potencial eléctrico en la membrana externa mitocondrial donde la energía libre de la reacción podría ser usada para el transporte activo de una carga negativa a través esta membrana tal y como se propone de forma análoga en el sistema de la fig. No. 1.

Es conocido que en el efecto Crabtree lo que se presenta es una inhibición en la respiración por la glicólisis o degradación de la glucosa. La inhibición de la respiración (la cual se evidencia como una disminución en el consumo de oxígeno) sería la consecuencia de la no producción de ATP (proceso que consume oxígeno) debido posiblemente a que este compuesto macroérgico se encuentre secuestrado en la mitocondria.

En este orden de ideas, en el presente trabajo el efecto de la Glucosa sería el análogo a un aumento en la actividad de la enzima E (VmE), así el aumento del potencial eléctrico para un aumento en VmE es evidente durante los resultados que involucren el potencial eléctrico de membrana con la VmE. Además el efecto de la no salida del ATP de la mitocondria, en el modelo propuesto, se nota en la restricción para el flujo J_a para VmE altos, ya que el potencial eléctrico generado es suficiente para cerrar el canal VDAC para J_a que es la representación del flujo estacionario a través de la membrana que involucra al ATP^4 . Así, se espera que la Glucosa aumente el potencial de membrana haciendo que el ATP no pueda salir de la mitocondria por los VDAC libres.

Los resultados anteriores hacen del sistema propuesto una adecuada aproximación a lo que teóricamente debería ocurrir en la mitocondria. Así el ATP no puede salir de la mitocondria cuando la glucosa está presente en células

tumorales, hecho que se refleja en la baja concentración de ATP en el volumen "o" (ATP_o) debido a la cerrada del VDAC para el flujo J_a y así pues, se presentaría entonces una inhibición de la respiración, es decir, el efecto Crabtree. De esta manera, el efecto Crabtree en los sistemas propuestos en este trabajo se obtendría al aumentar la VmE, ya que en células cancerosas la actividad de la enzima hexoquinasa (enzima encargada de recibir a la glucosa en el primer paso de la glicólisis) es 100 veces más alta que en células normales y la actividad de la hexoquinasa en el presente trabajo es modulada por la VmE. De esta manera, con en el presente estudio se obtiene un acercamiento al posible mecanismo del efecto Crabtree explicado a través de un modelo computacional.

4. Conclusiones

La diferencia entre las permeabilidades del canal VDAC para diferentes metabolitos cargados es el principal causante de la generación de potencial eléctrico en la membrana.

Tanto el potencial eléctrico en la membrana obtenido como el parámetro de la sensibilidad del VDAC al voltaje son cruciales para la restricción de los flujos estacionarios a través de ésta.

Mediante el desarrollo computacional realizado en este trabajo se demostró la restricción en el flujo de ATP debido a la generación del potencial eléctrico, lo que ayuda a acercarse al posible mecanismo del fenómeno fisiológico conocido como el efecto Crabtree.

El desarrollo computacional de los sistemas modelados en este trabajo refleja en gran medida la restricción del flujo de ATP debido a la generación de potencial eléctrico en la membrana externa mitocondrial ya sea por el mecanismo de división del voltaje o por los dúplex VDAC-HK.

Referencias

- [1] Colombini, M., Blanchy-Dyson, E., Forte, M. VDAC, a channel in the outer mitochondrial membrane. En: Narahashi, T. New York: Ion Channels. Vol 4, 1996. 169-202.
- [2] Schein, S.J., Colombini, M., Finkelstein, A. Reconstitution in planar lipid bilayers of a voltage-dependent anion-selective channel, obtained from Paramecium mitochondria. J. Membr. Biol. Vol 30 (Jul., 1976); 99-120.
- [3] Rostovtseva, T., Colombini, M. ATP flux is controlled by a voltage-gated channel from the mitochondrial outer membrane. J. Biol. Chem. Vol 271, No. 45 (Nov., 1996); 28006-28008.

- [4] Rostovtseva, T., Colombini, M. VDAC channels mediate and gate the flow of ATP: implications for the regulation of mitochondrial function. *Biophys J.* Vol 72, No. 5 (May, 1997); 1954-1962.
- [5] Porcelli, A.M., Ghelli, A., Zanna, C., Pinton, P., Rizzuto, R., Rugolo, M. pH difference across the outer mitochondrial membrane measured with a green fluorescent protein mutant. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* Vol 326, No. 4 (Ene., 2005); 799-804.
- [6] Lemeshko, V.V. Theoretical evaluation of a possible nature of the outer membrane potential of mitochondria. *Eur. Biophys. J.* Vol 36, No. 1 (Oct., 2006); 57-66.
- [7] Mannella, C.A. Toward the molecular structure of the mitochondrial channel, VDAC. *J. Bioenerg. Biomembr.* Vol 24, No. 1 (Dic., 1992); 7-19.
- [8] Liu, M.Y., Colombini, M. Voltage gating of the mitochondrial outer membrane channel VDAC is regulated by a very conserved protein. *Am. J. Physiol.* Vol 260, No. 2 (Feb., 1991); C371-C374.
- [9] Liu, M.Y., Colombini, M. Regulation of mitochondrial respiration by controlling the permeability of the outer membrane through the mitochondrial channel, VDAC. *Biochim. Biophys. Acta.* Vol 1098, No. 2 (Ene., 1992); 255-260.
- [10] Liu, M.Y., Colombini, M. A soluble mitochondrial protein increases the voltage dependence of the mitochondrial channel, VDAC. *J. Bioenerg. Biomembr.* Vol 24, No. 1 (Jul., 1992); 41-46.
- [11] Lemeshko, S.V., Lemeshko, V.V. Metabolically derived potential on the outer membrane of mitochondria: A computational model. *Biophys. J.* Vol 79, No. 6 (Dic., 2000); 2785-2800.
- [12] Lemeshko, S.V., V.V. Lemeshko. Energy flux modulation on the outer membrane of mitochondria by metabolically-derived potential. *Mol. Cel. Biochim.* Vol 256-257, No. 1-2 (Dic., 2004); 127-139.
- [13] Lemeshko, V.V., Lemeshko, S.V. The voltage-dependent anion channel as a biological transistor: theoretical considerations. *Eur. Biophys. J.* Vol 33, No. 4 (Jul., 2004); 352-359.
- [14] Lemeshko, V.V. Model of the outer membrane potential generation by the inner membrane of mitochondria. *Biophys J.* Vol 82, No. 2 (Feb., 2002); 684-692.
- [15] Thomson, J., Gaucher, E., Burgan, M., De Kee, D., Li, T., Aris, J., Benner, S. Resurrecting ancestral alcohol dehydrogenases from yeast. *Nat. Genet.* Vol 37, No. 6 (May., 2005); 630-635.
- [16] Sussman I., Erecińska, M., Wilson, D. Regulation of cellular energy metabolism. The Crabtree effect. *Biochim. Biophys. Acta.* Vol 591, No. 2 (Jul., 1980); 209-223.
- [17] Rodríguez-Enríquez, S., Juárez, O., S. Rodríguez-Zavala, J., Moreno-Sánchez, R. Multisite control of the Crabtree effect in ascites hepatoma cells. *Eur. J. Biochem.* Vol 268, No. 8 (Abr., 2001); 2512-2519.
- [18] Crabtree, H. The carbohydrate metabolism of certain pathological overgrowths. *Biochem. J.* Vol 22, No 5 (Ago., 1928); 1289-1298.
- [19] Díaz-Ruiz, R., Avéret, N., Devin, A., Uribe, S., Rigoulet, M. The mechanisms leading to the Crabtree effect in fermenting yeast. *Biochim. Biophys. Acta.* Vol 1777, No. 1 (Jul., 2008); S52.
- [20] Sten-Knudsen, O. *Biological Membranes: Theory of Transport, Potentials and Electric Impulses.* Cambridge: Cambridge University Press, 2002.
- [21] Walter, C. *Steady-state applications in enzyme kinetics.* New York: The Ronald Press Company, 1965.