

ABP-2 orientado al aprendizaje de conceptos de enzimología y genética. ¿Qué le ocurre a Yuga Liu?

Alicia Megías Fresno. Mercedes Oñaderra Sánchez.

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I. Facultad de Ciencias Biológicas.
Universidad Complutense de Madrid. C/ José Antonio Novais, 12. 28040 Madrid.
amegias@bbm1.ucm.es mos@bbm1.ucm.es

Resumen: este caso se ha diseñado para su utilización en la asignatura Bioquímica de primer curso del Grado en Biología en la UCM pero podría ser empleado en cualquier curso de Bioquímica General para ayudar a los alumnos a entender y aplicar conceptos básicos de Enzimología y Genética. Yuga Liu, estudiante chino natural de Shangai, realiza un curso de Ingeniería Geológica en la UCM en el seno de un programa de intercambio. En una salida nocturna con sus compañeros, toma un par de cervezas y empieza a notar un malestar tan alarmante que ha de ser ingresado en el Servicio de Urgencias del Hospital Gregorio Marañón. Los estudiantes deben averiguar cuál es el problema de Yuga. El estudio de las bases moleculares del síndrome de intolerancia al alcohol permite a los alumnos comprender los fundamentos de la cinética enzimática, la importancia de la relación estructura-función en proteínas y conceptos esenciales de Genética.

Palabras clave: Intolerancia al alcohol. Cinética enzimática. Alcohol deshidrogenasa. Aldehído deshidrogenasa. Polimorfismos. Transcripción.

OBJETIVOS EDUCATIVOS

Objetivos generales

- Conseguir que los estudiantes reflexionen sobre la relación entre los conocimientos bioquímicos y las situaciones cotidianas (como la ingestión de alcohol).
- Comprensión de la relación estructura-función de las proteínas.
- Comprensión de la relación gen-proteína y las posibles consecuencias de las alteraciones en la secuencia del DNA.
- Iniciar a los alumnos en la búsqueda y manejo de fuentes de información en español e inglés.

Objetivos específicos

Después de realizar el problema ABP, los estudiantes serán capaces de:

- Manejar y transformar correctamente unidades de medida bioquímicas.
- Comprender cómo los cambios de aminoácidos en posiciones críticas de las cadenas polipeptídicas pueden afectar a la función de las proteínas.
- Calcular los parámetros cinéticos de una enzima y comprender su significado bioquímico.
- Entender los conceptos de gen, alelo, polimorfismo y mutación.
- Discutir los procesos a través de los cuales la información almacenada en el DNA se expresa en las proteínas.
- Entender las técnicas que se emplean para la detección de secuencias específicas en el DNA y su utilidad en situaciones diversas.
- Explicar el metabolismo del etanol y comprender los riesgos que conlleva el consumo excesivo.

METODOLOGÍA

- Actividad de aprendizaje cooperativo: equipos formados por 3 alumnos.
- Presentación del problema en clase y puesta a disposición de los alumnos a través de la plataforma de docencia virtual (Campus Virtual de la UCM).
- Requisitos: con alumnos de primer curso son recomendables clases previas convencionales para explicar las propiedades de los aminoácidos, estructura de las proteínas, y conceptos básicos de cinética enzimática y genética.
- Tiempo disponible para la resolución del problema: 3 semanas.
- Tutorías: 2 horas en el aula. Se puede optar por la realización de tutorías externas formalizadas en grupos poco numerosos.
- Discusión del problema y evaluación del aprendizaje: sesión única en el aula de 1 hora de duración utilizando una presentación de Power Point interactiva y un sistema de mandos electrónicos de respuesta para contestar a las cuestiones planteadas en la presentación. Se aconseja la presencia de un profesor adicional para la asistencia técnica.

PROBLEMA ABP

¿QUÉ LE OCURRE A YUGA LIU?¹

Yuga Liu, estudiante chino de 23 años, participa en un programa de intercambio suscrito entre la Tongji University de Shangai y la Universidad Complutense. En octubre

¹ Los personajes y documentos presentados en este ABP son totalmente ficticios.

del año pasado viajó a Madrid para realizar el último curso de Ingeniería Geológica en la Facultad de Geológicas de la Complutense. Yuga se ha incorporado perfectamente al nuevo ambiente, ha hecho amigos entre sus compañeros de clase y disfruta de los encantos de la ciudad. El 20 de Diciembre pasado, Yuga y sus compañeros de clase Pedro, David, Noa y María fueron a celebrar el comienzo de las vacaciones de Navidad.

Pedro: propongo ir a tomar unos vinos por el barrio antiguo y Atocha para que Yuga vea el ambientillo y luego acabamos la noche en Kopital.

Noa: estupendo porque Yuga parece un ratón de biblioteca de tanto estudiar. Le vendrá bien divertirse.

Pedro: no exageres. Todos estudiamos mucho.

David: bueno Yuga ¿Tú qué opinas?

Yuga: bien. Interesante.

Comienzan en “Cañas y Barras”, local típico que está a esas horas completamente abarrotado.

Noa: Yuga, fíjate que ambiente. Vamos a pasar una noche estupenda.

Pedro: empezamos con unos vinos y unos pinchos de tortilla ¿vale?

Yuga: mejor cerveza negra para mí. Dicen que es buena.

David: yo también prefiero cerveza.

Les sirven los pinchos y las bebidas, y empiezan a comentar sus planes para las vacaciones. A los 15 minutos, los vasos están vacíos y piden otra ronda.

María: Yuga ¿tienes calor? Te estás poniendo rojo como un tomate.

Yuga: no muy bien. Dolor de cabeza. No bebo más.

Noa: si es que tanto estudiar, te va a fundir los circuitos ...

Diez minutos después, Yuga se encuentra francamente mal: tiene taquicardia, su dolor de cabeza es insoportable y tiene nauseas.

Pedro: pero, ¿qué te pasa?

Yuga no puede contestar. Intenta levantarse y se tambalea. Está a punto de desmayarse.

María: esto no es normal. Parece que se ha bebido un barril entero. ¿Qué hacemos? ¿Llamamos a una ambulancia?

Noa: no. Es mejor que le llevemos nosotros a urgencias. Será más rápido. David, trae el coche del parking deprisa que esto tiene muy mal aspecto.

Veinte minutos más tarde, David, Pedro, María, Noa y Yuga entran en Urgencias del Hospital Gregorio Marañón. Les atiende el Dr. Canal, MIR de segundo año, al que cuentan lo ocurrido.

Dr. Canal: decís que sólo tomó una cerveza, ¿seguro? Porque los síntomas podrían indicar una fuerte intoxicación etílica.

Noa: seguro. Hemos estado juntos desde esta mañana y no ha bebido nada más.

Dr. Canal: ¿Alguno ha tomado cerveza como él?

David: yo también he tomado dos cervezas y estoy perfectamente.

Dr. Canal: bien, pediré una analítica urgente. David, ¿tienes inconveniente en que te hagamos también a ti una analítica?

David: si puede servir para algo, encantado.

Yuga es trasladado a un box. Mientras le exploran y le hacen los análisis pedidos por el Dr. Canal, sus amigos esperan muy preocupados. Dos horas después, el Dr. Canal tiene los resultados. Esta es la ficha correspondiente (Fig. 1).

Paciente: Yuga Liu

Observaciones:

El paciente presenta cefalea intensa, taquicardia, desorientación, alteración de la marcha, y rubor facial.

Edad: 23 años **Hora de ingreso:** 22:10

Gasometría arterial

Parámetros	Valores	Valores de referencia
pO ₂	98 mm Hg	90-110 mm Hg
pCO ₂	40 mm Hg	36-45 mm Hg
pH	7.40	7.37-7.45
Sat. Hb	98%	95-100%
Bicarbonato plasmático	24 mEq/L	22-26 mEq/L

Analítica

Parámetros	Yuga L.	David V.	Valores de referencia
Hematocrito	39%	42%	37-47%
Hematíes	4.2 mill./µl	4,8 mill./µl	4-5.5 mill./µl
Hemoglobina	14 g/dl	15.6 g/dl	12.5-17 g/d
Glucosa	108 mg/dl	110 mg/dl	75-115 mg /dl
Etanol	4.1 mM	11.3 mM	-
Acetaldehído	90 µM	0.8 µM	-
GOT	8 U/L	10 U/L	5-37 U/L
GPT	9 U/L	12 U/L	7-41 U/L
g-GGT	6 U/L	8 U/L	5-27 U/L

DIAGNOSTICO: INTOLERANCIA AL ALCOHOL

Figura 1. Ficha del paciente que recoge los datos personales, los síntomas y aspecto en el momento del ingreso y los resultados de la gasometría arterial y de la analítica sanguínea que le realizaron.

El Dr. Canal informa a los amigos de Yuga y les dice que la intolerancia al alcohol por deficiencia de la enzima ALDH-2 es relativamente frecuente en los orientales. No debe ingerir nunca bebidas que contengan alcohol. Al día siguiente Yuga se encuentra mejor y sus amigos le llevan a la residencia de estudiantes en la que se aloja.

Noa: que susto nos has dado Yuga. Me alegro de que te encuentres mejor.

Pedro: ¿Qué dijo el médico que tenía? Yo no he entendido nada. Sólo sé que no puedes tomar alcohol. ¿No lo sabías?

Yuga: en Shangai sólo tomaba zumos.

David: quizá debíamos consultarlo con Elena y Juan. Ellos estudian Bioquímica y seguro que nos lo pueden explicar.

Así lo hacen. Por supuesto, Elena y Juan saben cómo se metaboliza el etanol y cómo funciona una enzima pero no tienen claro qué es la ALDH-2 y qué relación puede tener con los orientales. Muy voluntariosos, se dedican a buscar bibliografía sobre el tema y encuentran información muy interesante (Tabla 1 y Figs. 2, 3 y 4).

Aldehído deshidrogenasa

<i>Parámetros cinéticos</i>	ALDH-1A1 Aldehído deshidrogenasa citósólica	ALDH-2 Aldehído deshidrogenasa mitocondrial
K_M CH ₃ -CHO (μM)	33	0.20
V_{max} (U/mg)	0.63	0.60

Tabla 1. Parámetros cinéticos de la aldehído deshidrogenasa citosólica y mitocondrial. Actividad enzimática determinada a 25°C, en tampón fosfato sódico 0.1 M, pH 7.5, con una concentración 1 mM de NAD⁺ y la misma concentración de ALDH-1A1 y ALDH-2.

Aldehído deshidrogenasa mitocondrial

La ALDH-2 humana está codificada por el gen *ALDH2* que se localiza en el cromosoma 12. Dicho gen presenta un polimorfismo debido a la sustitución de un único nucleótido, lo que conduce al cambio del residuo que ocupa la posición 487 de la cadena polipeptídica (Fig. 2). Los productos de *ALDH2*1* y *ALDH2*2* son dos variantes de la enzima aldehído deshidrogenasa mitocondrial. La variante codificada por *ALDH2*2* no presenta actividad “*in vivo*”. El estudio cinético de ambas variantes arroja los resultados que se muestran en la figura 3.

Se ha analizado la distribución de *ALDH2*1* y *ALDH2*2* en distintos grupos étnicos, comprobándose que la frecuencia de *ALDH2*2* es mínima en poblaciones de origen caucásico y alta en ciertas poblaciones orientales (Fig. 4).

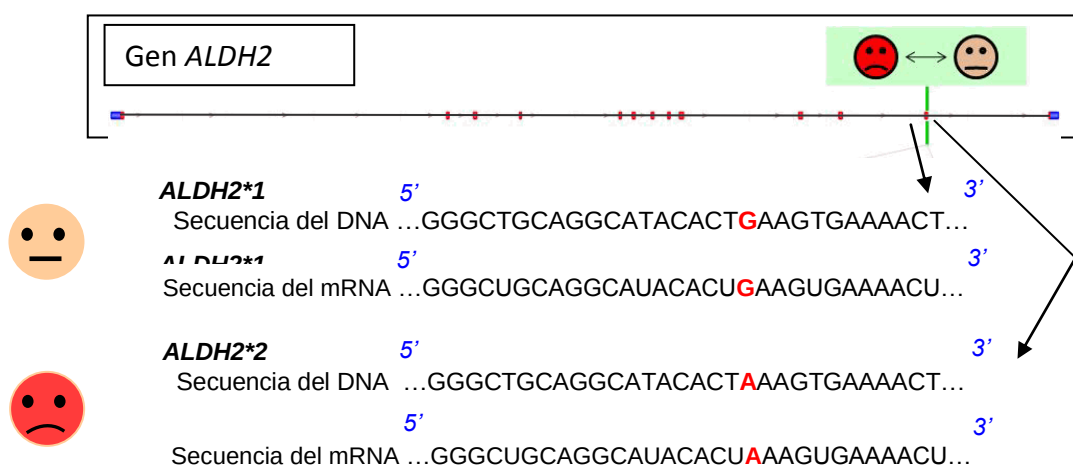


Figura 2. Aldehído deshidrogenasa mitocondrial. Secuencia parcial de las variantes polimórficas del gen codificante de la ALDH2 y de los correspondientes mRNAs.

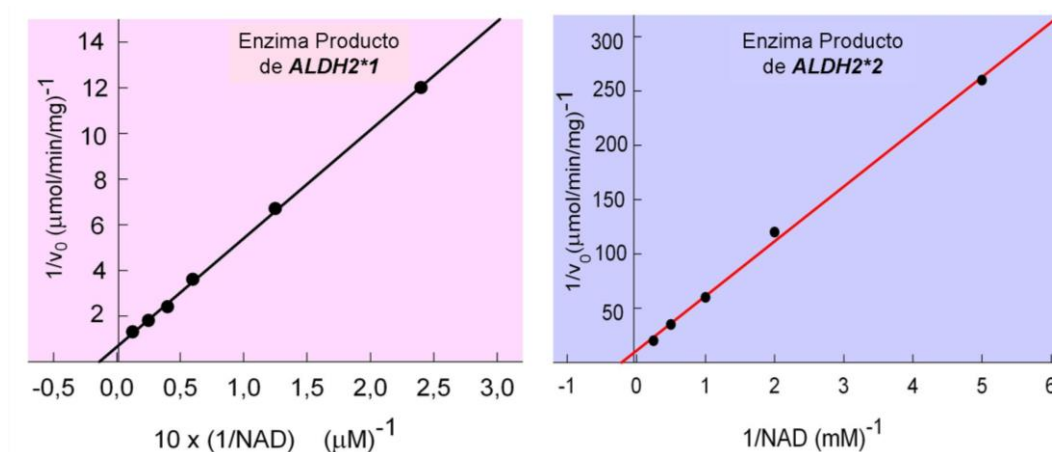


Figura 3. Estudio cinético de las variantes de la enzima ALDH-2. Actividad aldehído deshidrogenasa determinada a 25°C, en tampón fosfato sódico, pH 7.4, en presencia de 100 μM de acetaldehído. La concentración de enzima es la misma en ambos casos.

Con sus conocimientos de Bioquímica, Elena y Juan han sido capaces de interpretar estos resultados, entender qué le pasa a Yuga Liu y contestar las preguntas de sus amigos.

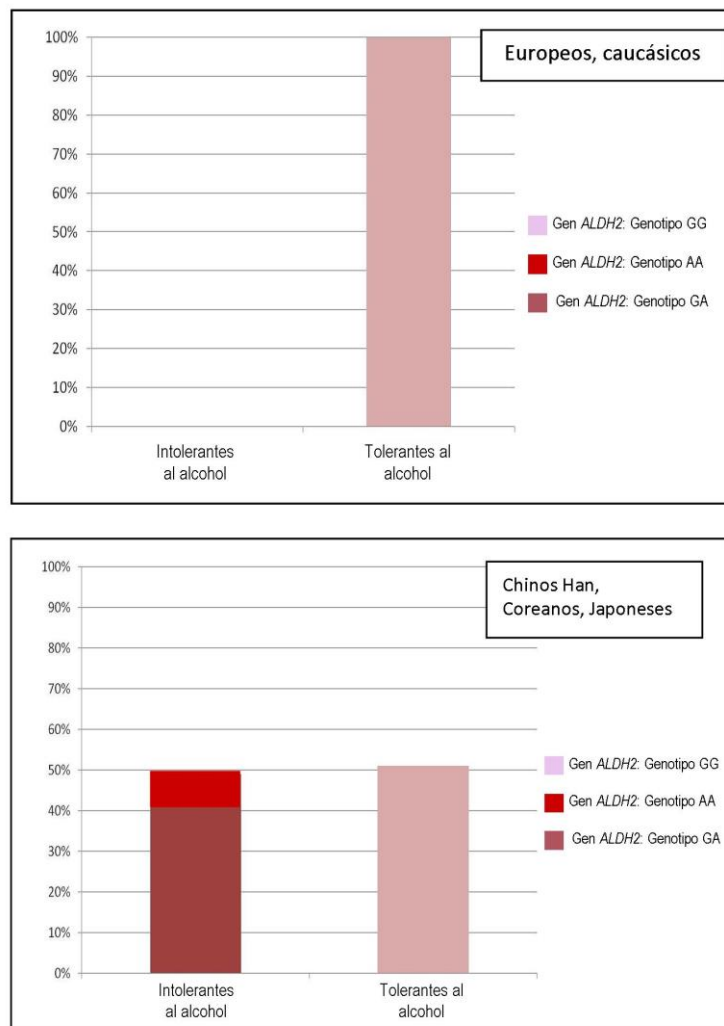


Figura 4. Distribución de *ALDH2*1* y *ALDH2*2* en distintos grupos étnicos. En ordenadas se indica el porcentaje de individuos con las distintas variantes alélicas.

CUESTIONES

1. David tomó dos cervezas de 350 ml y una graduación de 4.5%. Como está preocupado por lo ocurrido, quiere saber cuántos gramos de etanol ingirió. (Densidad del etanol: 0.8 g/ml).
2. Llevó a Yuga al hospital conduciendo su propio coche. Si la Policía le hubiera hecho la prueba de alcoholemia, ¿habría superado el límite permitido actualmente? Elena consultó esta página web:
<http://www.msps.es/ciudadanos/proteccionSalud/adolescencia/alcohol/home.htm>.

¿Qué opináis de la conducta de David?

3. ¿Podéis explicar a Yuga y sus amigos el significado de los parámetros determinados en la gasometría arterial y en la analítica sanguínea? A una pO_2 de 23 torr, ¿cuál sería el porcentaje de saturación de la hemoglobina? ¿Cuál es la concentración plasmática de glucosa de Yuga expresada en mM? ¿Por qué no hay valores de referencia en los parámetros “etanol” y “acetaldehído”? ¿Qué significa “U/L”?
4. También les interesó mucho saber cómo se metaboliza el etanol. ¿Cuál es la vía más importante cuantitativamente? ¿Qué enzimas intervienen en esta vía? Por cierto, ¿a qué categoría pertenecen según la nomenclatura EC?
5. Las aldehído deshidrogenasas citosólica y mitocondrial, ¿qué son entre sí? A la vista de los parámetros cinéticos, ¿cuál de ellas será la principal responsable de la formación de acetato “in vivo”? En la primera etapa de la reacción catalizada por las aldehído deshidrogenasas, la cadena lateral de un residuo de cisteína del centro activo ataca al sustrato formándose un intermediario covalente enzima-sustrato. ¿Qué tipo de enlace se forma y cómo se denomina a este mecanismo catalítico?
6. ¿Podrías explicar de forma sencilla a Yuga y sus amigos el significado de “polimorfismo”? ¿Conocéis otros genes que presenten polimorfismos? *ALDH2*1* y *ALDH2*2* ¿son dos genes distintos? De acuerdo con las secuencias de DNA que se muestran, ¿cuál sería la correspondiente secuencia de aminoácidos en la cadena polipeptídica? La sustitución G-A, ¿qué cambio supone en el aminoácido que ocupa la posición 487?
7. Respecto al gen que codifica la aldehído deshidrogenasa mitocondrial, ¿qué genotipo cree que tendrá David? ¿Y Yuga? ¿Cómo podrían estar seguros?
8. A la vista de los parámetros cinéticos determinados para las enzimas productos de *ALDH2*1* y *ALDH2*2*, ¿podéis explicar por qué la variante codificada por *ALDH2*2* no presenta actividad “in vivo”? ¿Qué consecuencias tiene? ¿Creéis que puede ser un factor de protección frente al alcoholismo?

Dato importante que encontró Juan: la concentración intracelular de NAD^+ es aproximadamente 0.4 mM.

9. Yuga no puede creer que por cambiar un único aminoácido, la enzima deje de funcionar y le cree tantos problemas (recuerde que estudia Ingeniería Geológica). ¿Por qué este cambio puede ser tan importante? Proponed alguna explicación.
10. Para el tratamiento del alcoholismo crónico se utiliza [disulfiram](#), un fármaco que produce una reacción aguda al consumo de etanol. Considerad la información que se presenta en la figura 5 y proponed una hipótesis para explicar cómo puede actuar el disulfiram a nivel molecular.

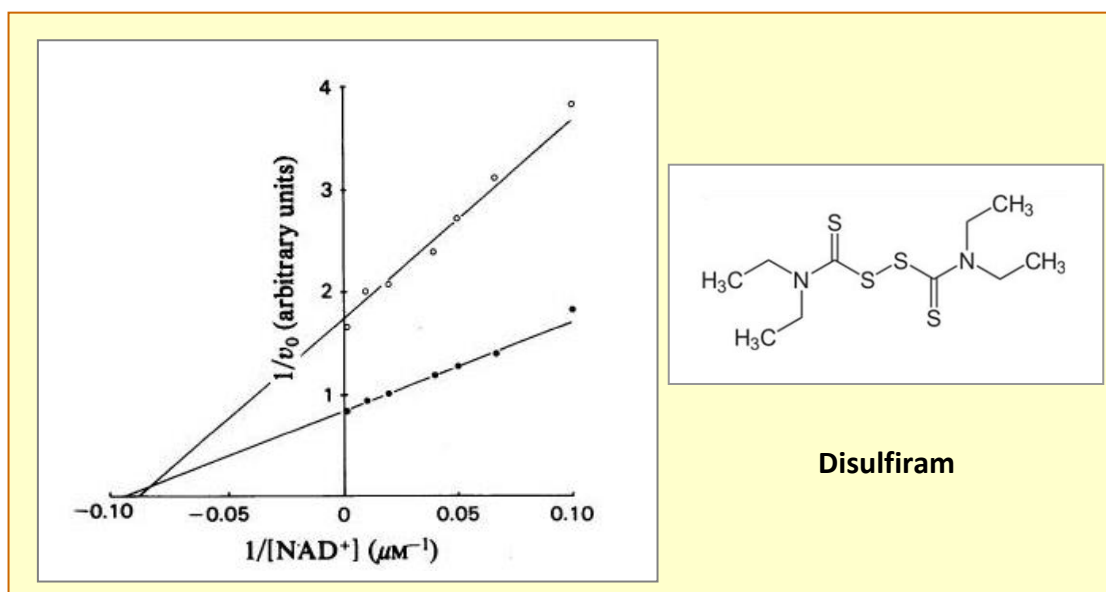


Figura 5. Representación de Lineweaver-Burk que muestra el efecto del disulfiram sobre la aldehído deshidrogenasa. La actividad de la enzima se midió *in vitro* a distintas concentraciones de NAD^+ en presencia (○) y en ausencia (●) de disulfiram $0.3 \mu\text{M}$. El efecto del disulfiram sobre la enzima se elimina en presencia de 2-mercaptoetanol 0.4 M .

MATERIAL DE CONSULTA

Devlin T. 2004. *Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones clínicas*. Ed. Reverté.

Larson, H.N., Weiner H., Hurley T.D. (2005). *J. Biol. Chem.*, 280: 30550-30556.

<http://www.adicciones.es/files/aragon.3.pdf>

<http://www4.ujaen.es/~descara/psicofarmacologia/genetica.pdf>

<http://www.adicciones.es/files/izquierdo.13.pdf>

SESIÓN DE EVALUACIÓN: PRESENTACIÓN INTERACTIVA

La presentación mostrada corresponde a una parte de la utilizada en el curso 2011-2012. Obviamente, tanto su contenido como las cuestiones-guía planteadas en el problema ABP admiten numerosas variantes, lo que permite adaptar el caso a las necesidades de aprendizaje de los estudiantes.



¿Qué le ocurre a Yuga Liu?

ALICIA MÉGÍAS Y MERCEDES OÑADERA
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I
Facultad de Biología, UCM

21 de Diciembre: comienza la fiesta



Yuga y sus amigos van de vinos por Madrid para celebrar el comienzo de las vacaciones de Navidad. Yuga toma una cerveza, David dos, y Pedro, Noa y María dos vinos. Acompañan la bebida con un pincho de tortilla. Yuga comienza a sentirse mal y ante lo alarmante de los síntomas, van rápidamente en el coche de David a urgencias del Gregorio Marañón.



C1

David tomó dos cervezas de 350 ml y una graduación de 4,5%. La analítica que le realizaron en el Marañón ($\approx$ 60 minutos después) determinó que la concentración de etanol en sangre era de 11,3 mM. ¿Cuántos gramos de etanol ingirió y cuál era su tasa de alcoholemia?

A. 25,2 g y 0,519 mg/L, respectivamente
B. 25,2 mg y 0,519 g/L, respectivamente
C. 25,2 g y 0,519 g/L, respectivamente
D. 25,2 mg y 0,519 mg/L, respectivamente
E. 25,2 g y 519 g/L, respectivamente

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100

¿David no habría pasado el control de alcoholemia!




Límite legal en España:

- 0,5 g/L (0,25 mg/L en aire espirado) para conductores en general.
- 0,3 g/L (0,15 mg/L en aire espirado) durante los dos años siguientes a la obtención del permiso de conducir y para transporte de viajeros, escolares y mercancías.

C2

¿Qué significado tiene este parámetro determinado en la analítica?
GOT: 8 U/L

A. 8 μ moles de sustrato transformado en producto/min/litro por la enzima glutamato oxalacetato transaminasa
B. 8 mmoles de sustrato transformado en producto/min/litro por la enzima glutamato oxalacetato transaminasa
C. 8 μ moles de sustrato transformado en producto/seg/litro por la enzima glutamato oxalacetato transaminasa
D. 8 μ moles de sustrato transformado en producto/min/litro por la enzima glucosa oxidasa transferasa
E. 8 μ moles de sustrato transformado en producto/min/ml por la enzima glucosa oxidasa transferasa

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100

Metabolismo del etanol



BOCA: El alcohol entra en el cuerpo a través de la boca.

ESTÓMAGO: El alcohol atraviesa el estómago.

HÍGADO: La detoxificación del alcohol tiene lugar principalmente en el hígado.

INTESTINO DELGADO: El alcohol se absorbe principalmente a través del intestino delgado y pasa al torrente sanguíneo.

Figura 6.

BIBLIOGRAFIA

Bibliografía básica

- Berg, J. M.; Tymoczko, J. L. y Stryer, L. 2008. *Bioquímica*. 6ª edición. Ed. Reverté.
- Nelson, D. L. y Cox, M.M. 2009. *Lehninger. Principios de Bioquímica*. 5ª edición. Ed. Omega.
- Devlin, T. 2004. *Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones clínicas*. 4ª edición. Ed. Reverté.

Voet, D.; Voet, J. G. y Pratt C. W. 2007. *Fundamentos de Bioquímica*. 2ª edición. Ed. Panamericana.

Bibliografía específica

Aragón, C.; Miquel, M.; Correa, M. y Sanchís-Segura, C. 2002. Alcohol y metabolismo humano. *Adicciones*, 14: 23-42. Disponible en:
<http://www.adicciones.es/files/aragon.3.pdf>

Berlin, D. S.; Person, M. G.; Mittal, A.; Oppezzo, M. A.; Chin, D. B.; Starr, B.; Klein, T.E.; Schwartz, D. L. y Altman, R. B. 2010. DNA Twist: A Web-based tool for teaching middle and high school students about pharmacogenomics. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 87: 393-395.

Chen, Y. C.; Peng, G. S.; Wang, M. F.; Tsao, T. P. y Yin, S. J. 2009. Polymorphism of ethanol-metabolism genes and alcoholism. Correlation of allelic variations with the pharmacokinetic and pharmacodynamic consequences. *Chem. Biol. Interact.*, 178 : 2-7.

Escarabajal, M. D. 2003. Alteraciones genéticas relacionadas con el alcoholismo. *Rev. Neurol.*, 37: 471-480. Disponible en:
<http://www4.ujaen.es/~descara/psicofarmacologia/genetica.pdf>

Farrés, J.; Wang, X.; Takahashi, K.; Cunningham, S. J., Wang, T. T. y Weiner, H. 1994. Effects of changing glutamate 487 to lysine in rat and human liver mitochondrial aldehyde dehydrogenase. A model to study human (oriental type) class 2 aldehyde dehydrogenase. *J. Biol. Chem.*, 269: 13854-13860.

Izquierdo, M. 2002. Intoxicación etílica aguda. *Adicciones*, 14: 175-193. Disponible en:
<http://www.adicciones.es/files/izquierdo.13.pdf>

Larson, H. N.; Weiner, H. y Hurley, T. D. 2005. Disruption of the coenzyme binding site and dimer interface revealed in the crystal structure of mitochondrial aldehyde dehydrogenase "Asian" variant. *J. Biol. Chem.*, 280: 30550-30556.

Larson, H. N.; Zhou, J.; Chen, Z.; Stamler, J. S.; Weiner, H. y Hurley, T.D. 2007. Structural and functional consequences of coenzyme binding to the inactive Asian variant of mitochondrial aldehyde dehydrogenase. Roles of residues 475 and 487. *J. Biol. Chem.*, 282: 12940-12950.

RECURSOS ELECTRÓNICOS

Biological Database

<http://www.dnatwist.org/BDE/index.html>

Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad. Consumo juvenil de alcohol.

<http://www.msps.es/ciudadanos/proteccionSalud/adolescencia/alcohol/home.htm>

Recibido: 21 diciembre 2011.

Aceptado: 4 septiembre 2013.