

PAPEL DE LAS ERO PRODUCIDAS POR LA NOX EN PROCESOS FISIOLÓGICOS*

Angélica Coyoy Salgado y Julio Morán

División de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular,
Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F., México
Correo E: jmoran@ifc.unam.mx

RESUMEN

Las especies reactivas de oxígeno (ERO) pueden ser producidas por diversas fuentes. Se ha propuesto que la enzima NADPH oxidasa (NOX) podría ser determinante en la generación de ERO que participan en múltiples procesos fisiológicos y patológicos. Existen 7 homólogos de la NOX, cuya función primaria es generar ERO. La distribución de los miembros de la familia de la NOX en los tejidos y células del organismo es muy variada. La NOX participa en diversos procesos fisiológicos como la defensa del huésped y la diferenciación, proliferación y muerte celular a través de distintos mecanismos que incluyen el procesamiento postraducciona de proteínas, la señalización intracelular y la regulación de la expresión génica, entre otros. La alteración en la actividad o expresión de la NOX puede conducir a una serie de procesos patológicos. En la presente revisión abordaremos algunos de estos procesos.

ABSTRACT

Reactive oxygen species (ROS) are generated by several sources. It has been suggested that NADPH oxidase (NOX) participates in the production of ROS that are involved in many physiological and pathological processes. There are 7 homologues of the NOX, whose primary function is the ROS production. The distribution of the members of the NOX family in the tissues and cells is widespread. NOX participates in the host defense, cell death, proliferation and differentiation, through mechanisms that include cellular signaling, regulation of gene expression, posttranslational processing of proteins, etc. Also, the alteration of NOX expression or activity can lead to a series of pathological processes. In this review we will address some of these processes.

INTRODUCCIÓN

Especies reactivas de oxígeno (ERO) es el nombre genérico que se le da a una variedad de moléculas y radicales libres derivados del oxígeno molecular, que se caracterizan por tener una alta reactividad. La producción fisiológica de las ERO puede ocurrir como un producto secundario de otras reacciones biológicas. Esto ocurre en la mitocondria, en los peroxisomas y en otros organelos celulares, así como en otras reacciones del metabolismo celular. Por otro lado, la NADPH oxidasa (NOX) es un sistema cuya función primaria es la producción de ERO. En los últimos 15 años se ha demostrado que los miembros de la familia de la NOX y las ERO produ-

cidas propositivamente por esta enzima, participan en diversos procesos fisiológicos. En la presente revisión abordaremos algunos de estos procesos.

LAS ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO (ERO)

Las ERO se derivan del oxígeno molecular (O_2) y resultan ser más reactivas que éste en su estado basal. Las principales ERO generadas son resultantes del producto de la ruptura o de la excitación del O_2 , como el ozono (O_3) y el oxígeno en singulete (1O_2). En un segundo grupo se encuentran las especies de oxígeno parcialmente reducidas como el anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo ($\cdot OH$) (1,2).

PALABRAS

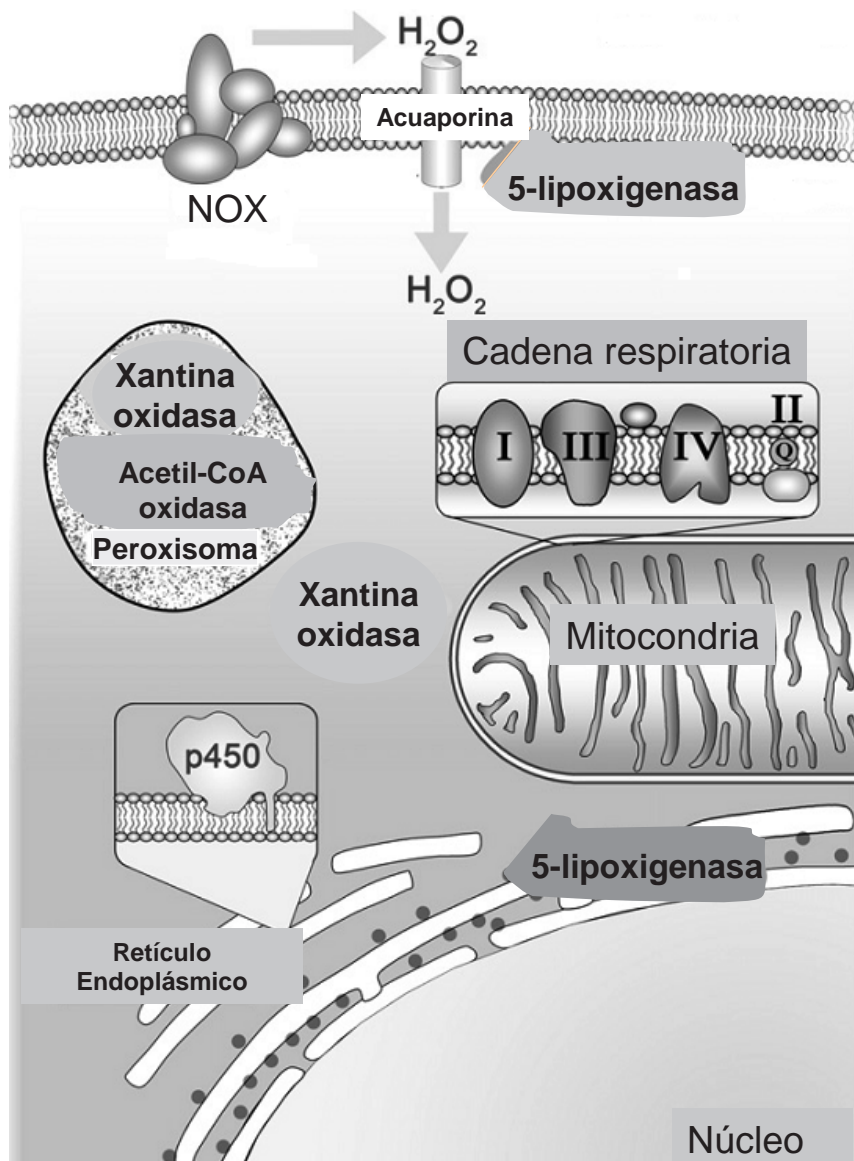
CLAVE:

Estrés oxidativo;
NADPH-oxidasa;
NOX.

KEY WORDS:

Oxidative stress;
NADPH oxidase;
NOX homologues.

Figura 1. Fuentes de ERO en la célula. La cadena respiratoria en la mitocondria es una de las fuentes responsables de la generación de ERO producidas en aerobiosis. Otras fuentes de ERO como producto secundario, incluyen a la degradación de los ácidos grasos de cadena larga, el catabolismo de las purinas mediado por la xantina oxidasa peroxisomal o citosólica, la síntesis de leucotrienos mediada por la 5-lipoxigenasa y la activación del citocromo P450, entre otros. La NOX se localiza en membranas y su función primaria es la producción de ERO. Las ERO producidas por la NOX pueden salir de la célula, y en el caso del peróxido de hidrógeno éste puede ingresar a las células a través de acuaporinas. (Modificada de Covarrubias et al., 2008).



Las ERO interactúan con una gran cantidad de moléculas, incluyendo moléculas inorgánicas, proteínas, lípidos, carbohidratos y ácidos nucleicos, entre otras. De esta forma las ERO pueden alterar la funcionalidad de una gran variedad de moléculas, lo que puede repercutir en los procesos fisiológicos en función de la concentración de ERO, el tipo celular y el contexto en el que se encuentren las células (3). Se sabe que las concentraciones elevadas de ERO llevan a la degeneración y muerte celular como resultado de la oxidación masiva e inespecífica de moléculas como lípidos, proteínas y DNA (4).

Por otro lado, recientemente se ha demostrado que las ERO participan en diversos procesos fisiológicos y patológicos, regulando eventos como el crecimiento celular, la adhesión, la diferenciación, la senescencia y la apoptosis, entre otros (1). En

estos casos las ERO son generadas endógenamente en respuesta a la activación de receptores intra y extracelular, citocinas, factores de crecimiento, etc. Las ERO producidas actúan a través de mecanismos moleculares que no se conocen completamente y que pueden implicar la activación o inhibición de vías de señalización intracelular, la modificación de receptores y de moléculas del citoesqueleto (5), entre otros.

FUENTES DE ERO

En los sistemas biológicos una parte de las ERO se forman como subproducto de la respiración aeróbica (6). Durante el transporte de electrones mitocondrial algunos de éstos escapan dando lugar a la formación de anión superóxido. El anión superóxido se puede convertir a su vez en peróxido

de hidrógeno por acción de la enzima superóxido dismutasa (SOD). Además, este anión también puede ser transformado no enzimáticamente a H_2O_2 y 1O_2 . El peróxido de hidrógeno producido puede ser subsecuentemente transformado en agua por enzimas como la catalasa y la glutatión peroxidasa. Además, en presencia de metales de transición no reducidos, como los iones ferroso y cuproso, el H_2O_2 puede ser convertido, mediante la reacción de Fenton, en el radical hidroxilo que es altamente reactivo (1).

Otros procesos metabólicos también producen ERO como un subproducto, como sucede durante la oxidación de los ácidos grasos en los peroxisomas. En este caso, los electrones de alto potencial generados durante la oxidación se transfieren al oxígeno y se produce peróxido de hidrógeno mediante una reacción catalizada por la acetil-CoA oxidasa. La ω -oxidación de los ácidos grasos es catalizada por la enzima citocromo P450, la cual también produce ERO (Fig. 1). Otra condición que genera ERO ocurre en el retículo endoplásmico durante el plegamiento de proteínas catalizado por la enzima sulfidril-oxidasa.

En mamíferos se han identificado diversas oxidoreductasas que llevan a la producción de ERO como un subproducto de sus actividades. Éstas incluyen a la ciclooxigenasa, la lipooxigenasa, la óxido nítrico sintasa, la xantina oxidasa y la ubiquinona, entre otras. Finalmente, la NOX es un complejo fundamental en la producción de ERO, la cual, a diferencia de las otras fuentes mencionadas, que generan ERO como subproductos, tiene como función primaria la producción de ERO (3, 5, 7).

NADPH OXIDASA (NOX)

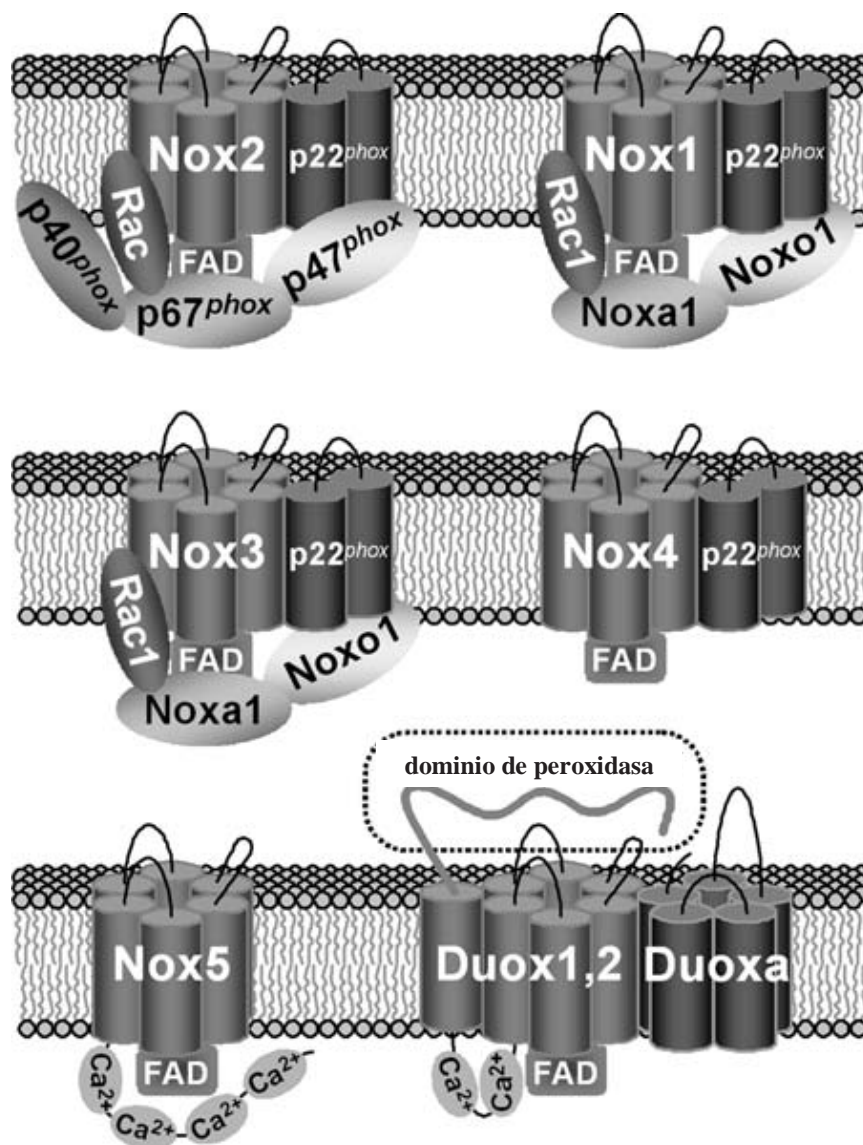
La NOX es un complejo enzimático que fue identificado y caracterizado inicialmente en neutrófilos y macrófagos. El complejo está formado por un componente membranal y otro citosólico. El primero está constituido por las subunidades p22phox y gp91phox (NOX2) y es conocido también como el citocromo b558 y representa la parte catalítica del complejo. El componente citosólico está formado por tres subunidades citosólicas, p40phox, p47phox, p67phox, las cuales regulan la actividad del complejo catalítico junto con la GTPasa Rac (Figs. 2 y 3). La subunidad catalítica NOX2 es un flavocitocromo altamente glicosilado de 570 aminoácidos que contiene dos grupos hemo no idénticos, coordinados por dos pares de residuos de histidina (4, 8, 9).

Una vez activa, la NOX cataliza la reducción de oxígeno molecular para producir anión superóxido

utilizando NADPH como sustrato. En el caso de la NOX de macrófagos, donde se caracterizó originalmente este complejo, el proceso se inicia en respuesta a una señal de activación que lleva a la fosforilación de p47phox mediada por algún miembro de la familia de PKC, ERK1/2, p38 MAPK, Pak1 o Akt (Fig. 3). La fosforilación de p47phox induce su unión a p40phox y p67phox y su translocación a la membrana plasmática, por lo que se considera que p47phox es una subunidad organizadora. Una serie de fosforilaciones posteriores permiten a esta subunidad interactuar con p22phox y NOX2, a través de sus dominios SH3, los cuales se unen a las regiones ricas en prolina (PRR) presentes en p22phox. Por su parte, p67phox se asocia a p47phox mediante su dominio SH3 del C-terminal la región PRR de p47phox (Fig. 3). La interacción de p67phox con NOX2 es fundamental para la activación de la NOX. En el caso de la subunidad p40phox, ésta también se fosforila y se une al complejo p47phox-p67phox a través de sus dominios Phox/Bem1p (PB1). Se sabe que p40phox aumenta la interacción de las subunidades reguladoras con el complejo ensamblado, ayudando a su anclaje a la membrana (Fig. 3). Finalmente, y de manera independiente de p47phox y p67phox, ocurre una translocación de Rac a la membrana. El GTP determina la interacción de Rac con la región N-terminal de p67phox. En su conjunto, la asociación de las subunidades citosólicas con las de la membrana y Rac conduce a la activación óptima de la enzima (Fig. 3).

La subunidad catalítica de la NOX contiene un sitio de unión a NADPH y otro a FAD en la región citosólica C-terminal, además de los dos grupos hemo presentes en la región transmembranal N-terminal, lo que constituye un aparato eficiente para el transporte de electrones del citoplasma al exterior de la célula. Una vez ensambladas las subunidades citoplásmicas y membranales, los electrones fluyen del NADPH unido a NOX hacia el FAD y mediante los dos grupos hemo que están orientados perpendicularmente a la superficie de la membrana constituyendo un conducto, los electrones pasan a través de la membrana para reducir el oxígeno molecular y formar anión superóxido (Fig. 4) (4, 9). En un primer paso, los electrones son transferidos al FAD en un proceso regulado por p67phox y generándose NADP y $FADH_2$; en un segundo paso, un electrón es transferido de $FADH_2$ al hierro del grupo hemo interno. Para poder recibir un segundo electrón del recién formado $FADH$, el hemo interno debe pasar el electrón al hemo externo. Para crear una fuerza energéticamente favorable es necesario que el O_2 esté unido al hemo externo, donde el oxígeno recibe el electrón, for-

Figura 2. Homólogos de la NOX. Se han identificado 7 homólogos, de los cuales la NOX1, NOX2 y NOX3 requieren de proteínas citosólicas adaptadoras, conocidas como organizadoras (p47^{phox} o Noxo1 y p40^{phox}) y activadoras (p67^{phox} o Noxa1). También requieren para su activación de la GTP-Rac. La subunidad p22^{phox} forma un complejo heterodimérico estable con las NOX 1-4, favoreciendo la unión de la enzima a la membrana plasmática y proporcionando un sitio de unión para las subunidades organizadoras. La NOX5 y las DUOX son sensibles al calcio debido a que poseen dominios EF de unión a calcio. Las proteínas activadoras de DUOX (Duoxa) forman complejos estables con éstas en la membrana plasmática. Las DUOX contienen un dominio de peroxidasa que produce peróxido de hidrógeno a partir del anión superóxido producido previamente. (Modificada de Lambeth, 2004).



mando anión superóxido en el borde externo de la membrana. Así, una molécula de NADPH produce dos iones superóxido mediante una transferencia gradual de dos electrones a dos moléculas de oxígeno (Fig. 4) (9, 10, 11, 12).

Durante la última década se ha demostrado la presencia de NOX en células no fagocíticas. Hasta el momento se han encontrado siete homólogos de la unidad catalítica NOX (NOX1, 2, 3, 4, 5, y DUOX1 y 2), un homólogo de la subunidad p47^{phox} (NOXO1) y uno de p67^{phox} (NOXA1) (13, 14, 15, 16). Además, la participación de las subunidades reguladoras para la actividad de la subunidad catalítica varía entre los diferentes miembros de NOX (Fig. 3) (11). Las DUOXs son conocidas también como oxidasas duales ya que contienen la estructura típica del citocromo b558 y un dominio homólogo a las peroxidasa, tales como la mieloperoxidasa y la lactoperoxidasa, que le confiere la propiedad de

producir H₂O₂ a partir de anión superóxido producido. Además, las DUOXs tienen dos dominios EF de unión a calcio en el extremo N-terminal. Dado que carecen de las subunidades reguladoras citoplásmicas, estos complejos regulan su activación por calcio a través del dominio EF mencionado (9, 10).

Se ha encontrado que NOX1, NOX3, NOX4 y NOX5 están estructuralmente muy relacionadas con NOX2 (13, 14), pero funcionalmente tienen ciertas diferencias que incluye: (i) la NOX de células no fagocíticas parece generar bajos niveles de superóxido, incluso en células no estimuladas; (ii) aunque su actividad puede estar desregulada en algunas condiciones patológicas, la producción de superóxido es mucho menor que la generada por la NOX de neutrófilos activados; (iii) una proporción importante del superóxido que se genera es intracelular, mientras que en los neutrófilos activados

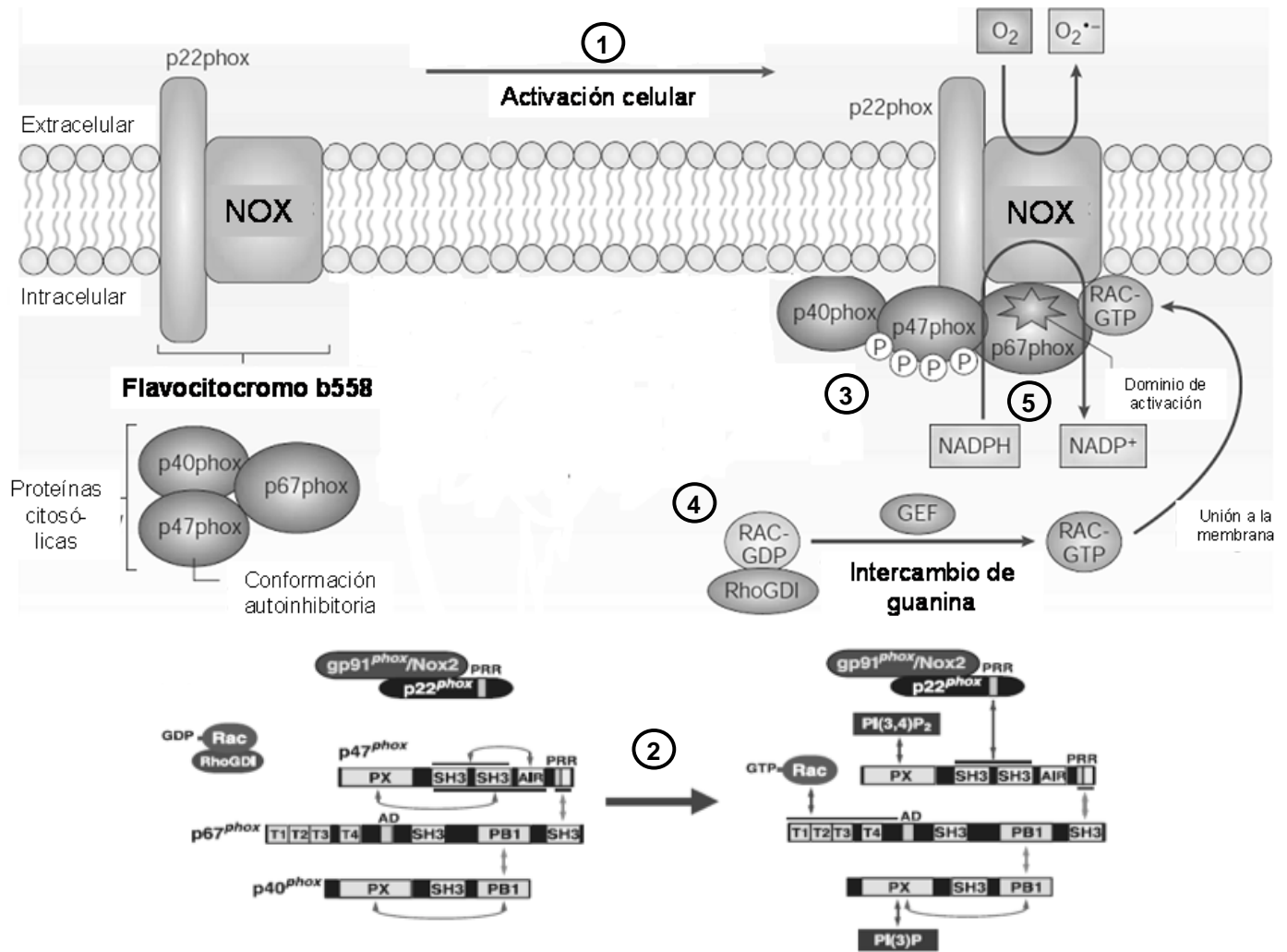


Figura 3. Activación de la NOX2 en macrófagos. 1) La célula recibe una señal que induce la activación de vías de señalización que llevan a la activación de cinasas. 2) La subunidad p47phox se fosforila por cinasas que catalizan varias fosforilaciones de la región autoinhibitoria (AIR) de p47phox, liberando su dominio bis-SRC-homología 3 (SH3), que permite enlazar a p22phox. También se favorece la exposición del dominio homología Phox (PX) de p47phox que permite su unión a fosfolípidos de la membrana. Por su parte, p67phox, a través de su dominio SH3 del C-terminal, se asocia a la PRR de p47phox. La subunidad p40phox se fosforila y se desplaza a la membrana junto con el complejo p47phox-p67phox a través de sus dominios Phox/Bem1p (PB1). 3) El complejo de las proteínas citosólicas reguladoras (p40phox/p47phox/p67phox) se translocan al flavocitocromo b558 (NOX2 y p22phox). La interacción de p67phox con NOX2 es fundamental debido a que p67phox contiene dos dominios SH3 necesarios para la activación de la NOX. 4) Por otro lado, las proteínas intercambiadoras de nucleótidos activan a la GTPasa Rac. La unión de GTP promueve cambios conformacionales en RAC que favorece la disociación de RhoGDI y su asociación a la membrana. El cambio conformacional también promueve la unión de RAC al tricodcapeptido (TPR) de p67phox, ayudando al ensamblaje de la enzima y coadyuvando su activación. 5) Una vez formado este complejo, los electrones fluyen del NADPH hacia el FAD de donde se transfieren a los grupos hemo de la subunidad catalítica NOX2 hasta llegar al aceptor final que es el O_2 y cuya reducción conduce a la formación del anión superóxido (Modificada de Sumimoto, 2008).

el O_2^- se genera en el compartimento extracelular a fagosoma (17).

Otra diferencia entre los miembros de la familia NOX es la distribución subcelular. NOX1 se ha identificado en caveolas de la membrana plasmática, mientras que NOX2 se encuentra en fagosomas

y en los lamelipodios de los conos de crecimiento. Tanto NOX1 como NOX2 se han localizado en redoxisomas, endosomas responsables de la señalización temprana mediada por receptor en células no fagocíticas. Por otro lado, la NOX3 se ha identificado preferentemente en la membrana

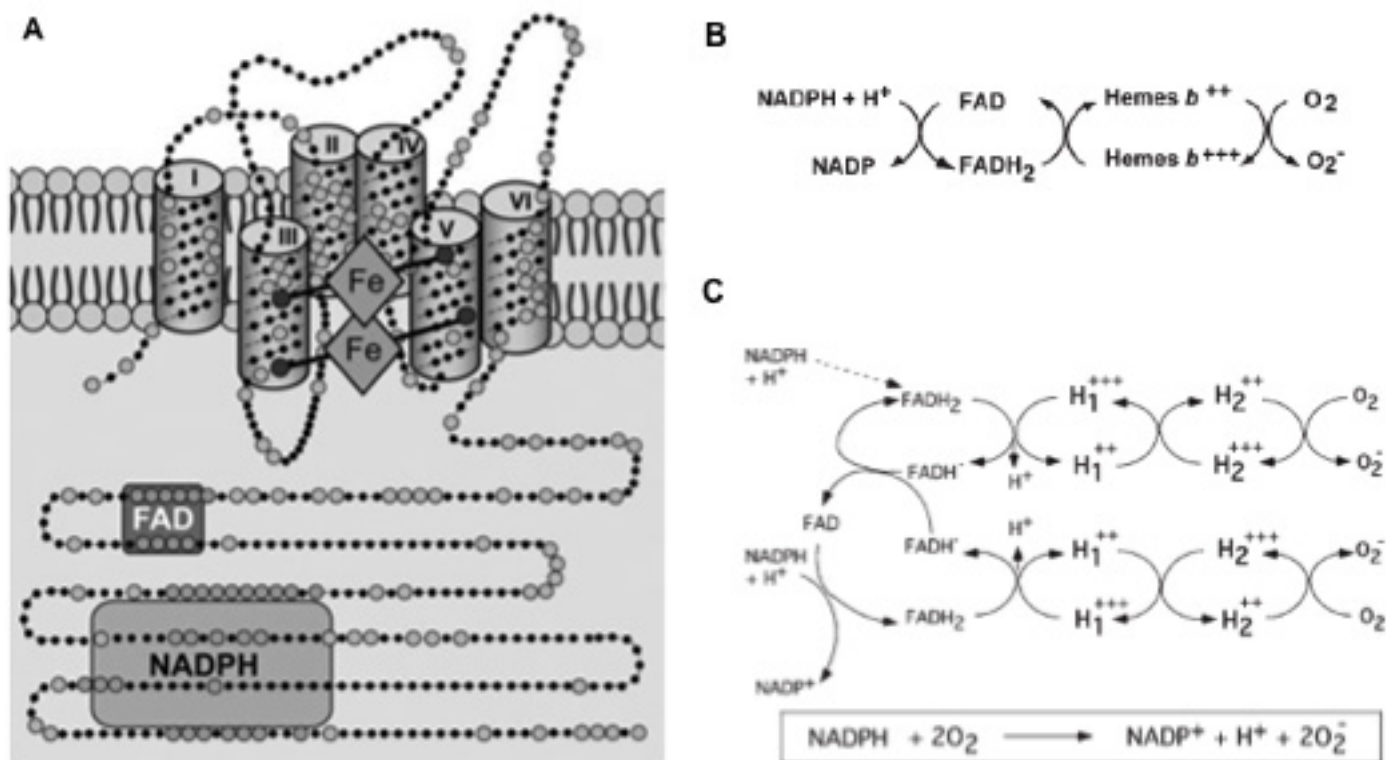


Figura 4. Mecanismo de producción de ERO por NOX. A) La subunidad catalítica de la NOX contiene sitios de unión a NADPH y FAD, así como dos grupos hemo que están orientados perpendicularmente a la superficie de la membrana, proporcionando un conducto para que los electrones puedan fluir. B) La estructura de esta subunidad catalítica permite, en un primer paso regulado por p67phox, que los electrones sean transferidos al FAD y así generar NADP y FADH₂; en un segundo paso, un electrón es transferido de FADH₂ al hierro del grupo hemo interno. Para poder recibir un segundo electrón del recién formado FADH, el hemo interno debe pasar el electrón al hemo externo. Para crear una fuerza energéticamente favorable es necesario que el O₂ esté unido al hemo externo, donde el oxígeno recibe el electrón, formando anión superóxido en el borde externo de la membrana. Así, una molécula de NADPH produce dos iones superóxido mediante una transferencia gradual de dos electrones a dos moléculas de oxígeno. C) De acuerdo a un modelo teórico es necesario un dímero de la NOX y una molécula de NADPH para transferir los electrones a dos moléculas de oxígeno molecular a través de los centros redox de la subunidad catalítica: 1) Por cada dímero se reducen un par de grupos hemo externo (H1) y un par de grupos hemo externo (H2) por acción de un par de FAD (el cual se cicla entre la semiquinona FADH• y el FADH₂) resultando en dos semiquinonas FADH• y un FADH₂. El recién creado FAD es, a su vez, totalmente reducido a FADH₂ por una NADPH + H⁺. Los dos FADH₂ generados son reintroducidos en un nuevo ciclo y para iniciar el ciclo de transporte de electrones se requiere solo un NADPH. En este estado el sitio de unión a NADPH es transitoriamente enmascarado y no funcional en una de las dos cadenas de la subunidad catalítica. Así, una molécula de NADPH produce dos iones superóxido mediante una transferencia gradual de dos electrones a dos moléculas de oxígeno (Modificado de Bedard, et al., 2007 y Vignais, 2002).

plasmática, mientras que NOX4 ha sido identificada en adhesiones focales, núcleo y retículo endoplásmico, donde interactúa con cinasas y fosfatasa distintas a las que se encuentran en la caveola y en los endosomas. Finalmente, NOX5 se ha encontrado en las membranas internas, mientras que DUOX1/2 se encuentran básicamente en la membrana plasmática (18).

Los mecanismos de activación de las NOX1, 2 y 3 son similares que, como se mencionó anteriormente, implican la formación de un complejo conteniendo la subunidad membranal catalítica y

las reguladoras citosólicas. La regulación de NOX4 es poco conocida, pero se sabe que en diversos tipos celulares tiene una actividad constitutiva. Su expresión es ubicua, lo que coincide con el hecho de que su secuencia génica posee múltiples bases GC en la región promotora, características de los genes de expresión constitutiva. Por otro lado, también se ha demostrado que la expresión de NOX4 puede ser inducida por algunos factores. Finalmente, la NOX5 y las DUOX1/2 carecen de las subunidades reguladoras y su activación está regulada por Ca²⁺ citosólico (9, 10, 18, 19). Los

genes que codifican para las subunidades NOX solo existen en eucariontes y son evolutivamente antiguos.

Dada la aparición muy temprana en la evolución y su amplia distribución en diferentes tipos de células en los animales, especialmente en los mamíferos, es probable que la NOX tenga un papel fundamental en mantener las funciones normales de las células (16, 19, 20). Diversos estudios han sugerido que las ERO generadas por las NOX podrían tener un papel fisiológico a través de la modulación de múltiples vías de señalización intracelular sensibles al estado redox de la célula, incluyendo la inhibición de fosfatasa de tirosina, la activación de factores de transcripción y la modulación de la actividad de algunos canales iónicos (15). Comparado con otros sistemas de señalización, se propone que la NOX tiene una amplia heterogeneidad en sus procesos de activación. Se ha observado que la NOX se puede activar por factores químicos, físicos, ambientales y biológicos. Algunos de estos estímulos pueden incrementar la función de la NOX aumentando su expresión génica, mientras que otros pueden también activar directa o indirecta el sistema enzimático sin modificar su transcripción. Algunas moléculas como la angiotensina II (Ang II), la trombina, el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento transformante β (TGF- β) producen alteraciones en la actividad o en la expresión de las NOX y en última instancia, en la cantidad de ERO producidos (16, 18, 20).

PAPEL FISIOLÓGICO DE LAS ERO PRODUCIDAS POR LAS NOX

Las NOX regulan muchos procesos fisiológicos fundamentales, como el crecimiento celular, la diferenciación, la apoptosis y la remodelación del citoesqueleto. Además, participan en otros procesos especializadas como la defensa del huésped, el control del tono vascular, la formación de la otoconia en el oído interno y la yodación de la hormona tiroidea, entre otros (4, 9, 11, 16, 18, 20). Se ha encontrado que los distintos homólogos de la NOX participan en procesos diferentes y en distintos tipos celulares.

NOX1

La NOX1, también conocida como Mox1, fue el primer homólogo de NOX2 que se identificó. Es una proteína 56% idéntica a NOX2 (13, 14, 15). Este complejo se expresa marcadamente en el epitelio del colon, donde su papel fisiológico es controversial, habiéndose propuesto que puede

participar en la defensa inmune y en la proliferación celular (20). La NOX1 también se expresa en células endoteliales, en el útero, en la placenta, en la próstata, en los osteoclastos y en la retina. También se ha demostrado que está presente en las células del músculo liso vascular, donde regula su crecimiento y migración. Por ejemplo, en células del músculo liso del ratón deficiente de NOX1, la migración se altera en respuesta al PDGF o al factor de crecimiento de fibroblastos (FGF). Se ha propuesto que NOX1 podría ser importante en la regulación de la presión arterial (9, 15, 17, 19).

NOX1 también se encuentra presente en las células del sistema nervioso central (SNC). Los ratones deficientes de NOX1 presentan una reducción en la sensibilidad al dolor que acompaña a la inflamación (hiperalgesia) mediada por la activación del canal TRPV1. En la microglía se ha sugerido que tiene un papel en la defensa del SNC, mientras que en las neuronas se ha implicado en el crecimiento de las neuritas (9, 11, 18, 20, 21). Más recientemente se ha asociado NOX1 a procesos relacionados con cáncer a través de su participación en el control del ciclo celular, en particular de la ciclina D1. La sobreexpresión de NOX1 en células epiteliales de pulmón induce un incremento en la expresión de la ciclina D1 y aumenta la proliferación (18). Por otro lado, en estudios de cáncer de colon humano se demostró una correlación entre las mutaciones de Ras y NOX1 sobreexpresado. Se ha propuesto que el oncogén Ras activa y regula a NOX1, lo cual es necesario para sus propiedades oncogénicas (18, 20).

NOX2

Se sabe que NOX2 es esencial en la defensa innata del huésped. Aunque NOX2 está más expresado en los fagocitos, también se ha detectado en el SNC, endotelio, en las células del músculo liso vascular, fibroblastos, cardiomiocitos, músculo esquelético, hepatocitos y en las células madre hematopoyéticas. Las personas que carecen de NOX2 o con mutaciones en otros componentes del complejo enzimático padecen granulomatosis crónica (CGD) y son altamente susceptibles a sufrir infecciones debido a una alteración en la actividad de los neutrófilos. Además, los ratones deficientes en NOX2 desarrollan artritis espontáneamente y la gravedad se incrementa proporcionalmente con la edad (3, 4, 9, 11, 13, 18, 20).

Los datos sobre el posible papel de NOX2 en funciones del SNC se derivan de los estudios en pacientes con CGD y ratones CGD. Entre los pacientes con CGD aumenta la tasa de prevalencia de déficit cognitivo, lo que coincide con los ratones

deficientes en p47phox, los cuales muestran problemas de memoria. Por lo tanto, es probable que NOX2 juegue un papel importante en las funciones cognitivas. En apoyo de esta hipótesis, se sabe que las ERO son importantes en la señalización implicada en los mecanismos subyacentes a la plasticidad sináptica y a la formación de la memoria (17, 19, 20).

NOX3

Este homólogo muestra una similitud de 55% con NOX2. Se expresa principalmente en el oído interno y en menor grado, en el bazo, riñón y pulmón. También se expresa de manera marcada en el cerebro de fetos de murino, pero sus niveles prácticamente desaparecen en el tejido adulto, lo que puede indicar que NOX3 desempeña un papel importante en el desarrollo. Se ha encontrado que diferentes mutaciones en NOX3 llevan a defectos en el sistema vestibular en ratones. Estos ratones mutantes presentan trastornos motores, de coordinación, orientación y comportamiento. Esto pone en evidencia el grado de especialización de NOX3 y la importancia en procesos fisiológicos del sistema nervioso. También se ha demostrado que la NOX3 tiene una importancia funcional en las células endoteliales del pulmón. En ratones donde incrementa la actividad de NOX3 se desarrolla enfisema, sin que hasta el momento se conozca el mecanismo involucrado. Otra línea de estudio ha demostrado un nuevo papel de NOX3 en la resistencia a la insulina. En un modelo de ratones diabéticos ocurre un incremento en la expresión de NOX3, así como de la generación de ERO en el hígado (15, 18, 20, 21).

NOX4

La NOX4 es una proteína de 758 aminoácidos y 39% de identidad con NOX2 y constituye el homólogo de mayor expresión en comparación con otros homólogos de NOX después de la NOX2. En el riñón se le ha asociado a la expresión de genes dependientes de oxígeno. La NOX4 también se ha implicado en otros procesos fisiológicos, incluyendo la senescencia celular, la apoptosis, la supervivencia, la señalización de la insulina, la migración y la diferenciación. También se ha demostrado que NOX4 es responsable de la producción de $O_2^{\cdot-}$ en osteoclastos, participando en el proceso de reabsorción ósea. Recientemente se encontró que NOX4 se expresa abundantemente en adipocitos. Este homólogo también se ha encontrado en las células musculares lisas, en las células endoteliales, en los fibroblastos, en los queratinocitos,

en las neuronas y en los hepatocitos (11, 15, 16, 18, 20, 21).

En células del músculo liso vascular (VSMCs) el IGF-I induce migración mediada por NOX4, por un mecanismo desconocido. NOX4 regula el crecimiento y la supervivencia en VSMCs tratadas con el activador del plasminógeno urocinasa o el TGF- β . Los estudios realizados con VSMCs, fibroblastos, adipocitos y células madre embrionarias muestran que la producción de ERO por NOX4 promueve la diferenciación (18, 20)

NOX5


NOX5 es un homólogo distante de la familia NOX que presenta solamente un 27% de identidad con NOX2. Está compuesta por 737 aminoácidos y contiene una extensión en el amino terminal con cuatro sitios de unión a calcio: tres dominios EF y un cuarto sitio atípico (19). NOX5 se expresa en las células endoteliales, en el bazo, en el útero, en órganos linfoides y en los testículos (11, 20). En líneas celulares transfectadas con NOX5 se encontró que la generación de superóxido es dependiente de calcio y que esta enzima también es capaz de actuar como canal de protones. El calcio produce un cambio conformacional en NOX5 a través de una interacción intramolecular que activa a la proteína. Varios autores han propuesto que NOX5 juega un papel en la proliferación celular. Por ejemplo, en VSMCs humanas la proliferación inducida por PDGF está mediada por NOX5. Esto coincide con el hecho de que NOX5 se expresa en varias líneas celulares de cáncer. En este sentido, se ha implicado a NOX5 en la regulación del cáncer de próstata y en el adenocarcinoma de esófago de Barrett. Se ha propuesto que el factor activador de plaquetas (PAF) induce la expresión de NOX5 en estas células. En este contexto, se ha sugerido que la NOX5 está implicada en la malignidad de las células B malignas maduras, ya que este complejo no se expresa en las células B normales (11, 18, 20). El gen de NOX5 está ausente en los roedores, por lo cual los estudios con genes interrumpidos no son factibles y es poco lo que se conoce sobre la NOX5 en su papel fisiológico (11).

DUOX1/DUOX2

Se considera que las DUOX tienen una naturaleza dual debido a su dominio extracelular de peroxidasa y a un dominio similar a NOX2, responsable de la producción de anión superóxido. Como se mencionó, las DUOX se regulan por calcio a través de un dominio EF de unión a Ca^{2+} (9, 10, 19). Estos complejos se expresan en el epitelio de los

tejidos de las mucosas de las vías respiratorias y del aparato digestivo y urogenital. También están presentes en glándulas endócrinas y exócrinas como la tiroides, las glándulas salivales, el páncreas y la próstata. Las DUOX fueron aisladas originalmente en los tirocitos de la tiroides y se asociaron a la producción de H_2O_2 utilizado para la oxidación del yoduro durante la síntesis de la hormona tiroidea. En el pulmón y las glándulas salivales, las DUOX proveen de H_2O_2 a la lactoperoxidasa que convierte los aniones tiocianato en el oxidante hipotiocianato con función microbicida, lo que le confiere un papel esencial en la defensa del huésped. Las DUOX requieren de factores llamados DUOXA, los cuales son proteínas transmembranales esenciales para su actividad. Las mutaciones en el gen de DUOXA2 producen hipotiroidismo congénito. Particularmente, DUOX2 está vinculada a casos de hipotiroidismo congénito, se cree que es la principal responsable de la síntesis de la hormona tiroidea. Por otro lado, la DUOX2 es inducible en el colon y en la glándula salival y tiene un papel muy importante en la defensa del huésped en este tejido (9, 11, 21).

CONCLUSIONES

En los últimos diez años ha avanzado marcadamente el conocimiento de diversos aspectos de las NOX, particularmente lo que se refiere a su bioquímica y su participación en procesos patológicos y fisiológicos. Sin embargo, aún falta por conocer otros aspectos que incluye la participación de las vías moleculares implicadas en la activación de la NOX, así como las vías de señalización y sus mecanismos que se activan o modulan por acción de este complejo. Una herramienta útil para resolver parte de estos puntos podría ser el uso de inhibidores específicos para cada homólogo, así como modelos de estudio de ratones deficientes condicionales para distintos homólogos de la NOX, entre otros. El entender el papel fisiológico de las NOX puede tener implicaciones clínicas y terapéuticas en algunas patologías asociadas a NOX2 la defensa del huésped, a NOX1 y su función en la presión arterial, a NOX3 y la resistencia a la insulina, a NOX4 y su función en el riñón y a las DUOX y la biosíntesis de la hormona tiroidea, entre otros procesos fisiológicos. 

REFERENCIAS

1. Dröge W (2002) Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 82:47-95.
2. Halliwell B (1992) Reactive oxygen species and the central nervous system. *J Neurochem* 59:1609-23.
3. Covarrubias L, Hernández-García D, Schnabel D, Salas-Vidal E, Castro-Obregón S. (2008) Function of reactive oxygen species during animal development: passive or active? *Dev Biol* 320:1-11.
4. Lambeth JD (2004) NOX enzymes and the biology of reactive oxygen. *Nat Rev Immunol* 4:181-9.
5. Hernández-García D, Wood CD, Castro-Obregón S, Covarrubias L. (2010) Reactive oxygen species: A radical role in development? *Free Radic Biol Med*. 49:130-43.
6. Halliwell B (1991) Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med*. 91:14S-22S.
7. Finkel T (2011) Signal transduction by reactive oxygen species. *J Cell Biol*. 19:7-15.
8. Babior BM (2004) NADPH oxidase. *Curr Opin Immunol*. 16:42-47.
9. Leto TL, Morand S, Hurt D, Ueyama T (2009) Targeting and regulation of reactive oxygen species generation by Nox family NADPH oxidases. *Antioxid Redox Signal* 11:2607-19.
10. Bokoch GM, Diebold B, Kim JS, Gianni D (2009) Emerging evidence for the importance of phosphorylation in the regulation of NADPH oxidases. *Antioxid Redox Signal* 11:2429-41.
11. Bedard K, Krause KH (2007) The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev* 87:245-313.
12. Vignais PV (2002) The superoxide-generating NADPH oxidase: structural aspects and activation mechanism. *Cell Mol Life Sci* 59:1428-59.
13. Lambeth JD, Cheng G, Arnold RS, Edens WA (2000) Novel homologs of gp91phox. *Trends Biochem Sci*. 10:459-61.
14. Cheng G, Cao Z, Xu X, van Meir EG, Lambeth JD (2001) Homologs of gp91phox: cloning and tissue expression of Nox3, Nox4, and Nox5. *Gene*. 269:131-40.
15. Bokoch GM, Knaus UG (2000). NADPH oxidases: not just for leukocytes anymore! *Trends Biochem Sci*. 28:502-508.

16. Geiszt M (2006) NADPH oxidases: new kids on the block. *Cardiovasc Res.* 71:289-99.
17. Li JM, Shah AM (2003) ROS generation by nonphagocytic NADPH oxidase: potential relevance in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 14:S221-6.
18. Brown DI, Griendling KK (2009) Nox proteins in signal transduction. *Free Radic Biol Med.*47:1239-53.
19. Sumimoto H (2008) Structure, regulation and evolution of Nox-family NADPH oxidases that produce reactive oxygen species. *FEBS J* 275:3249-77.
20. Katsuyama M, Matsuno K, Yabe-Nishimura C (2012) Physiological roles of NOX/NADPH oxidase, the superoxide-generating enzyme *J Clin Biochem Nutr.* 50:9-22.
21. Sorce S, Krause KH (2009) NOX enzymes in the central nervous system: from signaling to disease. *Antioxid Redox Signal.*11:2481-504.