

**PROBLEMA BIOQUÍMICO**  
*Producción de H<sub>2</sub>S por cistationina β-sintasa*

# PROBLEMA BIOQUÍMICO

## CINÉTICA DE PRODUCCIÓN DE H<sub>2</sub>S POR LA CISTATIONINA β-SINTASA DE *TRYPANOSOMA CRUZI*

Jerónimo Gonc (1), César Pastrana-Pineda (1), Noé López (1), Rusely Encalada (1),  
Josué Arturo Velázquez-Moyado (2), Javier A. Belmont-Díaz\*(1)

(1) Departamento de Bioquímica, Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez,  
Ciudad de México, Ciudad de México, México.

(2) Departamento de Farmacia, Facultad de Química (Conjunto E),  
Universidad Nacional Autónoma de México

\*Autor de correspondencia E: [javier.belmont@cardiologia.org.mx](mailto:javier.belmont@cardiologia.org.mx); [belmont81@hotmail.com](mailto:belmont81@hotmail.com)

### RESUMEN

La reacción canónica de la cistationina β-sintasa (CBS) consiste en una sustitución β donde el grupo tiol de la homocisteína reemplaza al grupo hidroxilo de la serina para producir cistationina. Esta reacción constituye el primer paso para la síntesis de cisteína a través la vía de transulfuración inversa. Además de su reacción canónica, la CBS puede catalizar otras reacciones de sustitución β, las cuales desempeñan un papel importante en la fisiología celular. Una de las reacciones no canónicas de CBS que tiene mayor relevancia es la producción de sulfuro (H<sub>2</sub>S) a partir de la condensación de dos moléculas de cisteína. En el presente trabajo profundizamos en las razones que explican la promiscuidad de sustratos que posee CBS y comparamos la cinética de la reacción canónica con la cinética de producción de H<sub>2</sub>S en la CBS recombinante de *Trypanosoma cruzi*.

### PALABRAS CLAVE

cistationina  
β-sintasa,  
cinética  
enzimática,  
*Trypanosoma  
cruzi*

### ABSTRACT

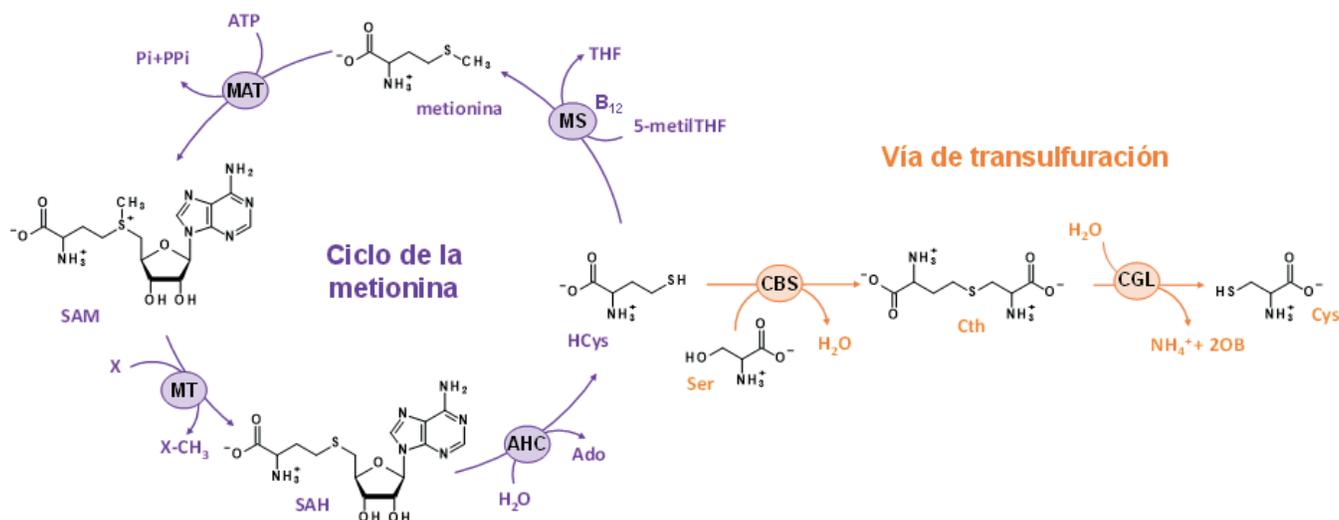
The canonical cystathionine β-synthase (CBS) reaction consists of a β-substitution where the thiol group of homocysteine replaces the hydroxyl group of serine to produce cystathionine. This reaction constitutes the first step in the synthesis of cysteine through the reverse transsulfuration pathway. In addition to its canonical reaction, CBS can catalyze other β-substitution reactions, which may play an important role in cellular physiology. One of the most relevant non-canonical CBS reactions is the production of sulfide (H<sub>2</sub>S) from the condensation of two cysteine molecules. In the present work we delve into the reasons that explain the promiscuity of the CBS substrates and compares the kinetics of the canonical reaction with the kinetics of the production of H<sub>2</sub>S in the recombinant CBS of *Trypanosoma cruzi*.

### KEYWORDS

Cystathionine  
β-synthase,  
enzyme kinetics,  
*Trypanosoma  
cruzi*

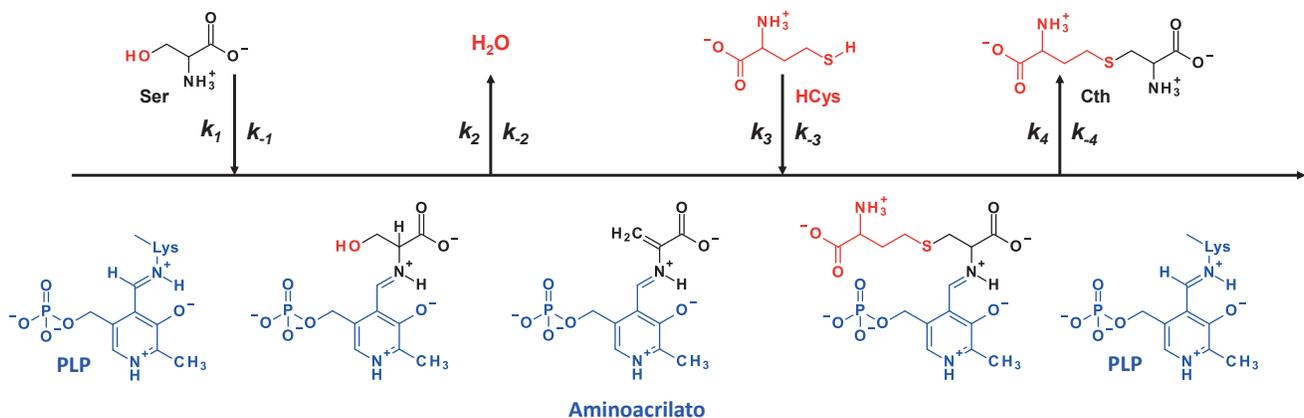
## Introducción

La cistationina  $\beta$ -sintasa (CBS) cataliza la reacción de sustitución  $\beta$  donde el grupo tiol de la homocisteína (HCys) reemplaza al grupo hidroxilo de la L-serina (Ser) (Fig. 1) (1). Esta reacción es el primer paso de la vía de transulfuración, la cual es una ramificación del ciclo de la metionina que culmina con la síntesis de cisteína (Cys) (Fig. 1) (2). En humanos, se han detectado mutaciones en CBS que provocan una disminución en la actividad de la enzima y una acumulación de HCys en plasma (3). A la condición donde la concentración de HCys en plasma es mayor a la normal ( $>15\mu\text{mol/L}$ ) se le conoce como hiperhomocisteinemia y está asociada a enfermedades cardiovasculares, cerebrovasculares y a eventos tromboembólicos (4).



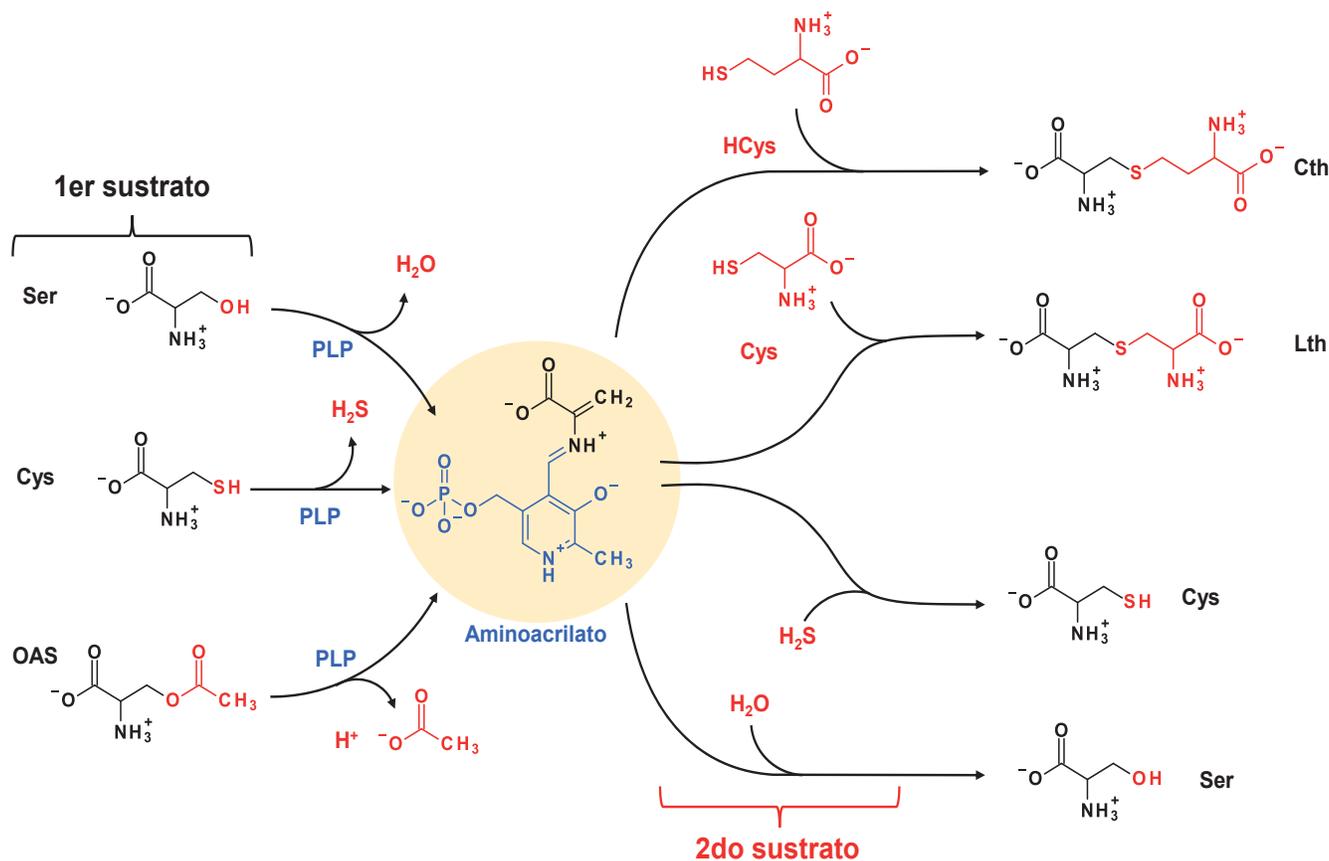
**Figura 1. La vía de transulfuración forma parte del metabolismo de la metionina.** Esta vía inicia con la condensación de la homocisteína (HCys) con la serina (Ser) para producir cistationina (Cth) en una reacción catalizada por la cistationina  $\beta$ -sintasa (CBS). Finalmente, la Cth es hidrolizada por acción de la cistationina  $\gamma$ -liasa (CGL) para producir cisteína (Cys), 2-oxobutirato (2OB) y amonio ( $\text{NH}_4^+$ ). Abreviaturas: adenosina (Ado), metiltransferasa (MT), metionina adenosiltransferasa (MAT), metionina sintasa (MS), S-adenosil homocisteína (SAH), S-adenosil metionina (SAM), tetrahidrofolato (THF), vitamina B12 ( $\text{B}_{12}$ ).

La actividad de CBS es dependiente de piridoxal 5-fosfato (PLP) el cual actúa como grupo prostético en la enzima (1). Los estudios cinéticos en CBS son consistentes con un mecanismo ping-pong (5), donde la Ser se une al PLP de la CBS y se pierde el grupo  $-\text{OH}$  de la Ser formándose un intermediario aminoacrilato. Posteriormente el grupo tiol de la HCys se une al aminoacrilato y da lugar a la formación de cistationina (Cth) (Fig. 2) (5).



**Figura 2. La CBS es una enzima birreactante que tiene un mecanismo catalítico ordenado de tipo Ping-Pong en el cual la serina (Ser) se une al grupo prostético piridoxal 5-fosfato (PLP) y pierde el grupo hidroxilo (OH) del carbono  $\beta$ , formando un intermediario aminoacrilato. El grupo tiol de la homocisteína (HCys) realiza un ataque nucleofílico al aminoacrilato y forma cistationina (Cth).**

Además de la reacción entre Ser y HCys, la CBS puede catalizar otras reacciones de sustitución β (1, 5). Para llevar a cabo estas reacciones, se requieren dos condiciones: en primer lugar, el sustrato inicial deberá ser un aminoácido que tenga un buen grupo saliente (-OH, -SH, -OOCCH<sub>3</sub>) en el carbono β; este grupo se separará de la estructura inicial y dará lugar a un intermediario aminoacrilato (Fig. 3). La segunda condición es que el segundo sustrato posea un grupo nucleofílico (-OH, -SH) que ataque al intermediario aminoacrilato y dé lugar a la formación de un nuevo producto (Fig. 3). Una de las reacciones no canónicas más importantes es la formación de sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S) a partir de la condensación de dos moléculas de Cys; esto se debe a que el H<sub>2</sub>S es una molécula importante para la señalización celular (6).



**Figura 3. Reacciones no canónicas de CBS.** La CBS puede llevar a cabo múltiples reacciones de sustitución β; para realizar estas reacciones se requiere que el primer sustrato sea un aminoácido con un buen grupo “saliente” (Ej. -OH, -SH, -OOCCH<sub>3</sub>) en el carbono β del aminoácido. Una vez que el aminoácido pierde el grupo del carbono β, se forma un intermediario aminoacrilato que es común a todos los sustratos iniciales. El segundo sustrato debe ser una molécula nucleofílica (Ej. HCys, Cys, H<sub>2</sub>S, H<sub>2</sub>O) la cuál ataca al aminoacrilato y da lugar a nuevos aminoácidos. Abreviaturas: cisteína (Cys), homocisteína (HCys), lantionina (Lth), O-acetilserina (OAS), piridoxal 5-fosfato (PLP), serina (Ser).

### Problema

La vía de transulfuración ha sido estudiada en *Trypanosoma cruzi* con la finalidad de buscar blancos farmacológicos contra este parásito y desarrollar terapias contra la enfermedad de Chagas (7). A pesar de que la actividad canónica de CBS ha sido caracterizada en *T. cruzi*, se tienen pocos datos acerca de las reacciones no canónicas de esta enzima (8).

En la tabla 1 se muestran los valores de velocidad específica de la CBS recombinante de *T. cruzi* correspondientes a la reacción canónica y a la reacción no canónica de la condensación de dos moléculas de Cys para formar lantionina (LTH). Calcula las constantes cinéticas (V<sub>m</sub>, K<sub>m</sub> y V<sub>m</sub>/K<sub>m</sub>) para ambas reacciones

utilizando el método de Lineweaver-Burk o de doble recíproco y si tienes las herramientas tecnológicas, realiza los cálculos utilizando ajustes no lineales a la ecuación de Henri-Michaelis-Menten.

**Tabla 1. Datos cinéticos**

<sup>a</sup> Reacción: Cys + Cys $\Rightarrow$ Lth + H <sub>2</sub> S		<sup>b</sup> Reacción: Ser + HCys $\Rightarrow$ Cth + H <sub>2</sub> O			
[Cys] (mM)	v (U mg <sup>-1</sup> )	[HCys] (mM)	v (U mg <sup>-1</sup> )	[Ser] (mM)	v (U mg <sup>-1</sup> )
0	0.0	0	0.0	0	0.0
0.5	5.0	0.5	0.9	1	1.2
1	9.6	1	2.4	2	1.6
2	13.9	2	3.4	5	2.5
5	14.2	5	4.5	10	3.2
10	17.2	10	4.6	20	3.9
<sup>a</sup> Reacción no canónica		<sup>b</sup> Reacción canónica		U = 1 μmol min <sup>-1</sup>	