

Anhidrasa carbónica, nuevas perspectivas

Lorena Espinosa Monroy,* Martha Patricia Sierra Vargas*✉

Departamento Investigación en Bioquímica y Medicina Ambiental, Laboratorio de Bioquímica Inorgánica. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas.*
Trabajo recibido: 26-XI-2010; aceptado: 01-III-2011

RESUMEN. La anhidrasa carbónica es una metaloenzima zinc dependiente, juega un papel importante en la catálisis reversible de la hidratación del CO_2 para formar HCO_3^- y H^+ . De las cinco familias descritas, la AC- α se encuentra en los seres humanos, ésta se divide en cuatro subgrupos y catorce isoformas. Su amplia distribución celular, le confiere una versátil funcionalidad. Los estudios reportados recientemente nos llevan a cuestionarnos acerca del papel que esta enzima juega en la génesis, el control y progreso de las enfermedades pulmonares, como asma, EPOC e inclusive la aterosclerosis y cáncer.

Palabras clave: Anhidrasa carbónica, dióxido de carbono, bicarbonato, enfermedades pulmonares.

ABSTRACT. Carbonic anhydrase is a zinc-dependent metalloenzyme that plays an important role in the hydration of CO_2 to form HCO_3^- and H^+ . Among the five families described, AC- α family is found in humans, it is divided into four subgroups and fourteen isoforms. Its wide cellular distribution confers a versatile functionality. Studies reported recently, lead us to question about the role that this enzyme plays in the genesis, control and progress of lung diseases such as asthma, COPD and even atherosclerosis and cancer.

Key words: Carbonic anhydrase, carbon dioxide, bicarbonate, lung diseases.

INTRODUCCIÓN

La anhidrasa carbónica (AC) E.C 4.2.1.1, también llamada carbonato deshidratasa fue descrita por primera vez en el eritrocito por Meldrum *et ál* en 1933.¹ Pertenece a la familia de las metaloenzimas que contienen en su sitio activo una molécula de zinc² que coordina con los anillos imidazol de 3 residuos de histidina: His 94, His 96 e His 119. Los residuos de treonina 199 y glutamato 106 conjuntamente con histidina 64 interactúan indirectamente a través de la unión de una molécula de agua, lo que confiere un ion hidroxilo a la molécula de zinc (figura 1).

Se han descrito al menos cinco familias distintas denominadas, α , β , γ , δ y ϵ . La AC- α , se encuentra en los seres humanos y se divide en cuatro subgrupos y 16 isoformas (CA I, II, III, IV, VA, VB, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII, XIV y XV). De las cuales, las isoformas VIII, X, XI y XV carecen de actividad debido a la sustitución de uno o más residuos de histidina, importantes para su función. Debido a esto, se les conoce como proteínas relacionadas a la AC (CARPs, por sus siglas en inglés).³ En la tabla 1 se presenta la clasificación de las diferentes isoformas de la enzima de acuerdo a su localización celular.

La AC presenta una actividad de liasa, es decir, enzimas que catalizan reacciones de eliminación no hidrolítica, no oxidante o la lisis de un sustrato; son reacciones que generan un doble enlace a través de la eliminación de moléculas de H_2O , CO_2 y NH_3 .⁴ La función más estudiada de esta enzima es catalizar la ionización del dióxido de carbono (CO_2) para formar el ácido carbónico (H_2CO_3), reacción que se lleva a cabo de manera continua en ausencia de la enzima, pero muy lentamente (100s para llegar al equilibrio); mientras que en presencia de ésta, el equilibrio se alcanza en menos de 1s, produciendo un protón (H^+) y un anión de bicarbonato (HCO_3^-). El mecanismo de reacción de AC sobre el CO_2 se puede separar en dos pasos (figura 2). En el primer paso, el hidroxilo unido a la molécula de zinc reacciona con el carbonilo del CO_2 para formar una molécula de HCO_3^- que queda unida al zinc; posteriormente, el bicarbonato mediante hidrólisis es desplazado a través de un intercambio de enlaces. En el segundo paso, el H^+ se transfiere al amortiguador externo mediante un transportador (H64 en la AC-II) para regenerar la especie catalítica activa, permitiendo que el zinc se una nuevamente al hidroxilo.^{5,6} La AC puede de forma

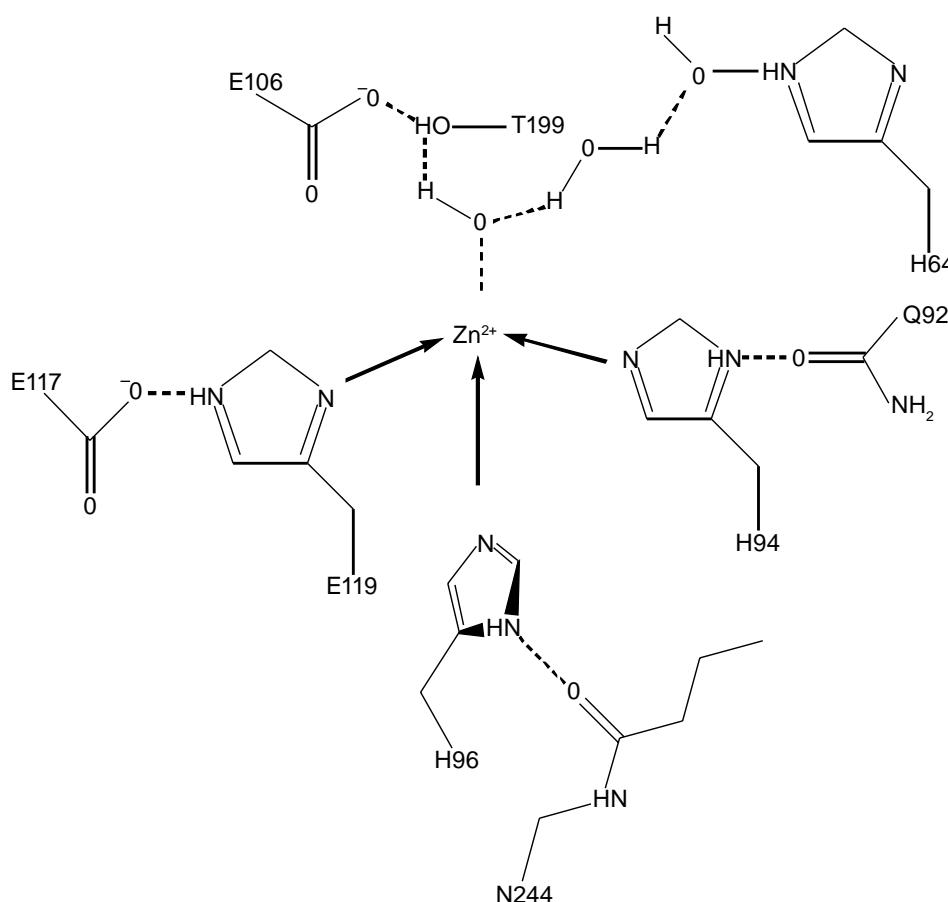


Figura 1. Estructura de la anhidrasa carbónica. En la figura se observa la molécula de zinc en el sitio activo, ésta coordina con los anillos imidazol de histidina 94, 96 y 119.

alternada interactuar con el intercambiador aniónico 1 (AE1), también conocido como proteína de la banda 3 o encontrarse libre en el citosol.⁷ Vince *et ál*, describieron que la AC se une al carboxilo terminal (Ct) de la proteína banda 3 del eritrocito,⁸ formando un complejo enzimático que facilita el transporte y la eliminación del CO₂ de los tejidos hacia los pulmones. Esta interacción potencializa la tasa de transporte del HCO₃⁻ que depende directamente de la concentración intracelular de este anión y que también es regulada por la ACII quien se encarga de disminuir la concentración mediante su conversión a CO₂. Se ha demostrado que la inhibición de la ACII modifica la actividad del AE1 en un 70%, indicando que la actividad de la enzima es necesaria para el adecuado intercambio de Cl⁻/HCO₃⁻.⁹ Además de ejercer una función de intercambio del CO₂, la enzima también facilita la captación del O₂ permitiendo el efecto Bohr durante el paso de los eritrocitos por los capilares.^{10,11}

RELACIÓN DE LA ANHIDRASA CARBÓNICA CON DIFERENTES PATOLOGÍAS

Las isoenzimas de AC tienen una amplia distribución tisular, por lo tanto, sus propiedades cinéticas difieren

Tabla 1. Clasificación de las isoenzimas de anhidrasa carbónica.

Citosólica	ACI, ACII, ACIII, ACVII, ACXIII
Mitocondriales	ACVA , ACVB
Secretadas (saliva, leche)	ACVI
Asociadas a membranas	ACIV, ACIX, ACXII, ACXIV, ACXV

dependiendo del tejido donde se localicen (tabla 2).¹² Por ejemplo, la ACII se localiza en los tejidos renal, cardiaco, hepático, sistema nervioso central, así como en el epitelio ciliar ocular, oído interno y mucosa nasal,¹³⁻¹⁷ y su función puede variar desde la regulación del pH hasta la prevención de la formación de la placa dentobacteriana.¹⁸ Además, la AC se ha relacionado con diversas patologías e incluso podría contribuir a la diferencia interindividual del umbral a la quimiosensibilidad nasal para CO₂.¹⁹ A continuación se menciona la relación de las isoenzimas de AC en los diferentes tejidos.

Tracto gastrointestinal. Varias isoenzimas de AC están presentes en el tracto gastrointestinal y participan

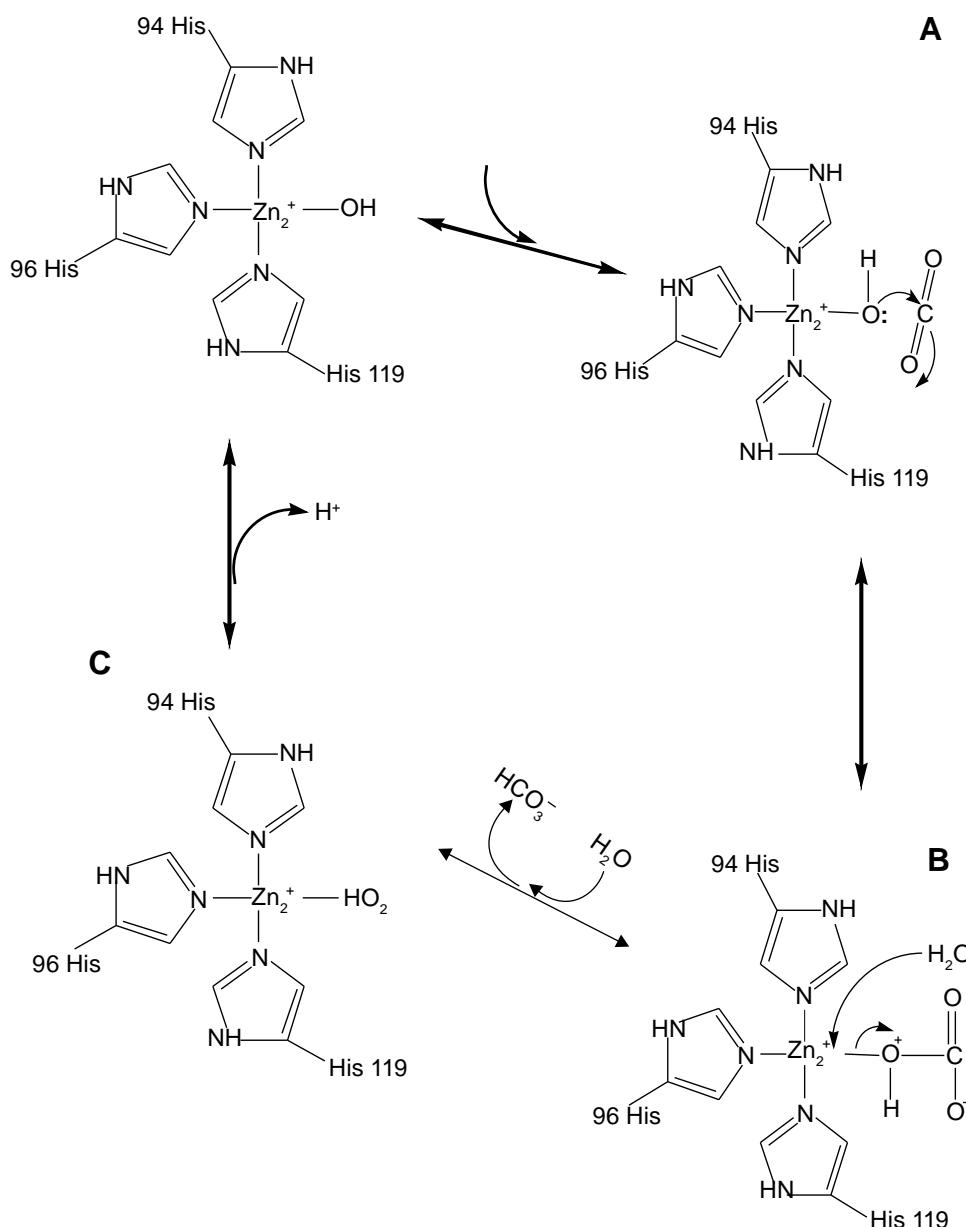


Figura 2. Mecanismo de reacción de la anhidrasa carbónica. La hidratación del CO_2 se lleva a cabo de la siguiente manera: el carbonilo del CO_2 es atacado por el hidroxilo de la AC y forma una molécula de HCO_3^- que queda unida al zinc; posteriormente, la hidrólisis produce la liberación del HCO_3^- . Enseguida el H^+ se transfiere al amortiguador externo mediante un transportador (H64 en la AC-II) para regenerar la especie catalítica activa, y el zinc se une nuevamente al hidroxilo.

en los mecanismos de transporte de membrana y la regulación del pH. En el estómago, las células parietales participan en la secreción de H^+ y reabsorción de K^+ vía la H^+, K^+ ATPasa. En el esófago, las células epiteliales expresan las isoenzimas I a IV, siendo la CAII y IV las de mayor actividad, mientras que la isoenzima I se encuentra confinada a las células basales. La administración local o sistémica de calcio estimula la secreción de AC tanto en las células de la mucosa gástrica como en los eritrocitos y se piensa que esta enzima podría intervenir en los mecanismos de eliminación del CO_2 y de sus metabolitos, así como en los mecanismos de transporte de membrana durante el crecimiento celular

y, sobre todo, en la regulación del pH como mecanismo de protección contra el reflujo gastroesofágico, ya que se ha observado un aumento en la expresión de la proteína de la ACIII en el epitelio esofágico de pacientes con este padecimiento, en los que también existe una relocalización de la expresión de esta enzima.²⁰⁻²² Al parecer, la AC podría tener una función importante en la protección del epitelio contra la alta presión parcial de CO_2 presentes en la luz del tracto gastrointestinal.²³

Anhidrasa carbónica y función renal. La AC se encuentra ampliamente distribuida en el tejido renal y tiene la misma función que en el resto de los epitelios. Hasta un 5% de la actividad está asociada a la AC que se

Tabla 2. Localización y características cinéticas de las isoformas de la anhidrasa carbónica.

	AC-I	AC-II
Localización subcelular y celular	Células: basales, no caliciformes, α de los islotes de Langerhans, endoteliales de la córnea, lenticulares, endoteliales de los capilares en el estroma de los procesos ciliares y de la coroides.	Células suprabasales y parietales de las glándulas gástricas. Células serosas, epiteliales, glándulas de Brunner. Superficie de las células caliciformes, hepatocitos. Células epiteliales del proceso ciliar, células de Müller de la retina, células fotorreceptoras de los conos. Esófago, parótida, glándula submaxilar, estómago, duodeno, colon, hígado, vesícula, páncreas, ojo. $km = 10$ mM para CO_2
Localización tisular	Esófago, colon, páncreas, ojo.	$km = 82$ mM para H_2CO_3 $km = 3$ mM para 4-nitrofenil acetato pH óptimo: 6-8
Parámetros cinéticos	$km = 4.0$ mM para CO_2 $km = 15$ mM para 4-nitrofenil acetato Activadores: histamina, imidazol, L-adrenalina, L- y D-histidina, L- y D-fenilalanina.	Activadores: calcitonina, rayos X, histamina, L-adrenalina, L- y D-fenilalanina, L- y D-histidina, L-His-OMe y beta-Ala-His (carnosina). Inhibidores: hormona paratiroidea, sacarina, tioxolona, cumarina, celecoxib (celebrex), valdecoxib (bextra), diclofenaco, acetato, azida, bromuro, derivados de sulfonamidas, como acetazolamida (AZA), methazolamida (MZA), ethoxzolamida (EZA), diclorfenamida (DCP), brinzolamida, dansilamida, tiabendazol-5-sulfonamida, trifluorometano sulfonamida y N-hidroxisulfamida, fructosa sulfamato y Foscarnet (sal de fosfonoformato trisódico). Sulfuro de hidrógeno (HS) nitrato (NO_3), N-hidroxiurea. Verapamil. La cianamida reduce la actividad esterasa.
Regulación	Inhibidores: cumarina, derivados de las sulfonamidas como: acetazolamida, benzenesulfonamida. La actividad esterasa ligeramente disminuida por cianamida. Nicotinato de metilo 5×10^{-4} M.	Acetilación
PTM	Acetilación	AC-IV
	AC-III	AC-IV
Localización subcelular y celular	Citoplasma, células basales	Membrana de las células basales. Células endoteliales coriocapilares
Localización tisular	Esófago y músculo	Esófago, pulmón, riñón, ojo
Parámetros cinéticos	$km = 52.0$ mM para CO_2	$km = 21.5$ mM para CO_2
Regulación	Activadores: donadores de protones como imidazol y el dipéptido histidilhistidina Inhibidores: cumarina y derivados de sulfonamidas como acetazolamida	Histamina, L-adrenalina, D-fenilalanina, L- y D-histidina, gastrina, acetilcolina Cumarina, sacarina, derivados de las sulfonamidas como acetazolamida y Foscarnet (sal de fosfonoformato trisódico).
PTM	Glutationilación	
	AC-VA	AC-VB
Localización subcelular y celular	Mitocondria	Mitocondria
Localización tisular		Corazón, páncreas, riñón, placenta, pulmón, músculo esquelético.
Parámetros cinéticos	$km = 10.0$ mM para CO_2	
Regulación	Activadores: histamina, L-adrenalina, L- y D-histidina, L- and D-fenilalanina Inhibidores: cumarina, derivados de las sulfonamidas, como acetazolamida y Foscarnet (sal de fosfonoformato trisódico).	Inhibidores: cumarina, derivados de las sulfonamidas, como acetazolamida, sacarina y Foscarnet (sal de fosfonoformato trisódico).
	AC-VI	AC-VII
Localización subcelular y celular	Células acinares de la parótida y glándulas submandibulares. Secretada en saliva.	Citoplasma
Localización tisular	Glándula parótida, glándula submaxilar	
Regulación		Activadores: histamina, L-adrenalina, L- y D-histidina, L- y D-fenilalanina.

Regulación	Inhibidores: cumarina, derivados de las sulfonamidas, como acetazolamida, sacarina y Foscarnet (sal de fosfonoformato trisódico).	Inhibidores: cumarina, derivados de las sulfonamidas, como acetazolamida, sacarina y Foscarnet (sal de fosfonoformato trisódico).
PTM	Puentes disulfuro, Glicación	
	AC-VIII	AC-IX
Localización subcelular y celular	Carece de actividad catalítica	Núcleo y membrana celular
Localización tisular		
Parámetros cinéticos	Carece del residuo de His en la posición 116, importante para la unión con la molécula de zinc en el sitio activo	Cánceromas: tracto digestivo pH óptimo: 6.5
Regulación		Se induce por hipoxia Inhibidores: cumarina, derivados de las sulfonamidas como acetazolamida, sacarina y Foscarnet (sal de fosfonoformato trisódico).
PTM		Puente disulfuro, glicación, fosforilación
	AC-X	AC-XI
Localización subcelular y celular	Carece de actividad catalítica	Carece de actividad catalítica
Localización tisular	Cerebro y sistema nervioso central. No se expresa en el cerebro fetal.	Cerebro, médula espinal y tiroides.
PTM	Fosforilación	Glicación
Isoforma	AC-XII	AC-XIII
Localización subcelular y celular	Membrana; proteína transmembrana de paso único tipo 1	
Localización tisular	Colon, riñón, próstata, intestino y linfocitos activados, páncreas, ovario y testículos. Cáncer renal.	Timo, intestino delgado, bazo, próstata, ovario, colon y testículo.
Parámetros cinéticos	km = 12.0 mM para CO ₂	km = 13.8 mM para CO ₂
Regulación	Activadores: tamoxifeno, estrógenos Inhibidores: cumarina, sacarina, derivados de las sulfonamidas, como acetazolamida, benzenosulfonamida y (4-carboxietilbenzeno-sulfonamida, 4-carboxietilbenzeno-sulfonamida etil éster, 4-(acetil-2-aminoetil)benzeno-sulfonamida, 4-aminoetilbenzeno-sulfonamida) y Foscarnet (sal de fosfonoformato trisódico).	Acetazolamida
Isoforma	AC-XIV	AC XV
Localización subcelular y celular	Membrana; proteína transmembrana de paso único tipo 1	No se expresa en humanos ni en chimpancés
Localización tisular	Sistema nervioso central, hígado corazón, intestino delgado, colon, riñón, vejiga urinaria y músculo esquelético.	
Parámetros cinéticos	km = 7.9 mM para CO ₂	
Regulación	Activadores: histamina, L-adrenalina, L- y D-histidina, L- y D-fenilalanina. Inhibidores: cumarina, sacarina, derivados de las sulfonamidas, como acetazolamida y Foscarnet (sal de fosfonoformato trisódico).	
PTM*	Puentes disulfuro Glicación	

Referencias: 20,21,40,77,78,79,80,81,82.*Modificación post-translacional; Modif de: <http://www.uniprot.org/uniprot/>

encuentra en membrana y el 95% restante corresponde a la AC citoplásrica (isoenzima II).^{24,25} La inhibición de la actividad de AC en la porción basolateral del túbulo contorneado proximal, disminuye la absorción de HCO_3^- en un 60%, mientras que la absorción de agua disminuye en un 30%.²⁶⁻²⁸ La actividad enzimática en el espacio peritubular proporciona iones H^+ para la conversión de CO_2 a HCO_3^- , de este modo previene la acumulación de CO_2 , lo que podría inhibir la función del cotransportador.^{29,30} La deficiencia enzimática es bastante rara y de presentarse se considera como un desorden genético caracterizado por acidosis tubular renal, osteopetrosis, calcificación cerebral y retraso mental.³¹

Anhidrasa carbónica y función ósea. La AC también participa en el mecanismo de resorción ósea. La enzima se localiza en el citoplasma de los osteoclastos e interviene en la acidificación del compartimiento subosteoclástico en donde el CO_2 se hidrata y da origen al H_2CO_3 , el cual se disocia en H^+ y HCO_3^- , el H^+ migra al exterior del osteoclasto alcanzando el compartimiento subosteoclástico. El Cl^- sigue un transporte pasivo y también sale del osteoclasto, el H^+ contribuye a la disolución de los elementos inorgánicos de la matriz ósea por lo que una inhibición de la actividad de AC podría influir en la homeostasis ósea.³² Sin embargo, estudios realizados por Gram *et ál*,³³ en 8 mujeres postmenopáusicas sanas, a las que se les inhibió la actividad de la AC mediante la ingesta de acetazolamida 250 mg cada 12 h durante 28 días no mostraron alteraciones en los biomarcadores de remodelación ósea. Por otro lado, Sonia *et ál*, reportaron 24 casos de osteopetrosis asociado con deficiencia de ACII. El 52% presentó retraso mental, 25% atrofia óptica. La acidosis metabólica fue una constante en estos pacientes, la cual se presentó de forma severa en la primera década de la vida y en 18 casos la actividad de la ACII se vio severamente disminuida.³⁴

Anhidrasa carbónica y cáncer. Estudios recientes han mostrado la expresión de diferentes isoenzimas de AC en varios tipos de cáncer, p. ej., en cáncer de esófago, riñón y pulmón. Estudios realizados por Haapasalo *et ál*³⁵ en una serie de 71 oligodendrogliomas y 255 astrocitomas, mostraron que en los estadios iniciales la expresión de CAII fue baja o nula, mientras que los estadios avanzados de oligoastrocitoma mixto y glioblastoma multiforme mostraron una elevada expresión. La expresión endotelial de ACII y la sobrevida de los pacientes mostró una correlación inversa, indicando que la presencia de esta enzima en el endotelio tumoral podría estar implicada en el metabolismo del tumor. También se ha sugerido que la expresión de CAII se asocia con la progresión de meningiomas malignos, lo cual podría aprovecharse como una molécula Diana para el tratamiento anticáncer.³⁶ Sin embargo, Kuo *et ál*,³⁷

exhibieron una disminución, tanto en la actividad como en la expresión proteica de ACI, II y III en carcinomas hepatocelular y colangiocelular pobremente diferenciados y concluyeron que esta reducción podría contribuir al crecimiento tumoral y a las metástasis. Conclusiones similares obtuvieron Chiang *et ál*, quienes evaluaron la expresión y actividad de CAI y II en carcinoma de células escamosas y de adenocarcinoma pulmonar.³⁸ También se ha encontrado relación en la expresión de la ACI y II con el cáncer de colon y recto, respectivamente;³⁹ y en el cáncer de mama, la expresión de la ACXII está relacionado con el receptor de estrógeno α (ER α).⁴⁰ Al parecer, la expresión de las isoenzimas de AC en el tejido tumoral hipóxico parece estar asociada a la pronóstico de los pacientes en los diferentes tipos tumorales.⁴¹

Anhidrasa carbónica y enfermedades inmuno-lógicas. Recientemente se ha encontrado una asociación de enfermedades provocadas por anticuerpos antianhidrasa carbónica, tal es el caso de la colangitis autoinmune.⁴² Otros estudios demuestran presencia de anticuerpos anti-AC en un 80% en pacientes con pancreatitis crónica, específicamente en anti-AC tipo II.⁴³ Los anticuerpos anti-AC se han identificado en otras enfermedades, como en mujeres que cursan con abortos idiopáticos recurrentes,⁴⁴ enfermedad de Graves, pancreatitis autoinmune, síndrome de Sjögren y en la pancreatitis crónica secundaria a alcoholismo, en donde se observó que los anticuerpos anti-AC estuvieron presentes con una frecuencia de 88.9, 67.6, 45.8%, respectivamente, comparados con individuos clínicamente sanos.^{45,46} Debido a que la presencia de anticuerpos anti-AC se correlaciona significativamente con las concentraciones de proteína C reactiva, se ha propuesto como un marcador de inflamación o de actividad en enfermedades autoinmunes como: artritis reumatoidea, espondilitis anquilosante, artritis psoriásica, lupus eritematoso sistémico, esclerosis sistémica y síndrome de Sjögren. Asimismo, la presencia de estos anticuerpos podría predecir la alteración en la difusión de monóxido de carbono en estas enfermedades.⁴⁷

Anhidrasa carbónica y pulmón. Se ha descrito que la ACII se expresa en los neumocitos tipo II de ratas y en el epitelio alveolar;⁴⁸ mientras que ACIV está asociada a la vasculatura capilar, y se sabe que entre el 70 al 90% de la actividad total se debe a la ACII y el resto a la isoforma IV. El significado fisiológico de la enzima a nivel pulmonar está asociado a facilitar el intercambio de CO_2 a nivel alveolopulmonar en el tiempo en que la sangre pasa a través del lecho capilar impidiendo variaciones importantes del pH.^{49,50} La microlitiasis alveolar pulmonar, es considerada un error innato del metabolismo que se ha asociado con una deficiencia en la AC, esta deficiencia conduce hacia la alcalinidad

local, impidiendo la solubilidad de las sales de calcio presentes en los alvéolos, dando como resultado la precipitación de este compuesto con la consecuente formación de microlitos.⁵¹ Estudios recientes han mencionado que la actividad de esta enzima no interviene en la reabsorción del fluido alveolar en condiciones basales o de hipercapnia.⁵² Estudios realizados por Ciftçi *et ál.* muestran que la nicotina inhibe la actividad de AC pulmonar en un 94%, este efecto no se vio contrarrestado con la administración de vitamina E.⁵³ La deficiencia genética de ACII se ha asociado con la hipertensión pulmonar primaria.⁵⁴ Está ampliamente demostrado que la exposición a humo de cigarrillo es causa de EPOC y que esta alteración no solamente tiene consecuencias a nivel pulmonar, sino que también tiene efectos a nivel sistémico afectando, entre otros, al músculo esquelético en el que se ha demostrado un aumento del daño por carbonilación secundario a las especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno derivadas de la exposición al humo del cigarrillo. Este aumento en la carbonilación también produce daño en la proteína de la AC,⁵⁵ cuya actividad se ve disminuida aumentando la fatiga muscular probablemente secundario a un aumento en la lactatización. También se ha visto que en pacientes con asma, la inhalación de acetazolamida es capaz de revertir aunque transitoriamente, la broncoconstricción, ya que la inhibición de AC disminuye el pH intracelular y la entrada de Cl⁻ impidiendo de esta forma el intercambio de Na⁺/K⁺.⁵⁶

La anhidrasa carbónica como molécula Diana. La inhibición de AC por ciertos agentes como las sulfonamidas ha mostrado ser aunque *in vitro* un prospecto de tratamiento para ciertos tipos de cáncer, p. ej.: leucemia, cáncer pulmonar de células no pequeñas, cáncer de ovario, melanoma, cáncer de colon, cáncer de los sistemas nerviosos central, renal; así como cáncer de próstata y cáncer de mama.⁵⁷ Parkkila *et ál.* demostraron que con 10 μ M de acetazolamida fueron capaces de inhibir entre un 18 y 74%, la tasa de invasión de carcinoma renal de cuatro líneas celulares (Caki-1, Caki-2, ACHN, y A-498).⁵⁸ Por otro lado, se han utilizado inhibidores de AC con una alta efectividad en tratamiento de glaucoma. Los fármacos de esta categoría reducen la formación del humor acuoso de los procesos ciliares disminuyendo la presión intraocular, entre dichos fármacos se encuentran la acetazolamida, diclorfenamida, brizolamida, metazolamida y dorzolamida.⁵⁹

La inhibición de AC ha tenido muchos avances y nuevas aportaciones terapéuticas, p. ej., en el mal de montaña, los inhibidores utilizados son la acetazolamida y la metazolamida, los cuales producen una inhibición de tipo competitivo mediante su unión con la molécula de zinc. En este padecimiento, la inhibición de AC por

la acetazolamida ha sido utilizada como terapéutica de rescate en las personas que realizan un ascenso rápido (500-750 mg/día) con el riesgo de presentar efectos secundarios derivado de la alta posología empleada. Recientemente, el empleo de este fármaco a bajas dosis (250 mg/día) como profilaxis antes de iniciar el ascenso ha tenido mucho éxito.⁶⁰ La inhibición de AC por la acetazolamida se produce a nivel de los eritrocitos, túbulos renales, quimiorreceptores, cerebro, pulmón y vasos sanguíneos sistémicos. La inhibición enzimática a nivel renal por acetazolamida, produce un aumento urinario de bicarbonato originando acidosis metabólica; también induce una respuesta ventilatoria a la hipoxia poiquilocápnica dando como resultado un aumento de la presión parcial de O₂ a nivel arterial.⁶¹ Otro beneficio de la inhibición de la actividad de esta enzima es la disminución de la severidad de la distonía paroxística,⁶² así como en el control de epilepsia refractaria.⁶³ Sin embargo, el uso crónico de este medicamento se ha asociado también con alteraciones como acidosis tubular renal.⁶⁴ Si bien, la utilización de acetazolamida en pacientes con EPOC ha mostrado no ser tan efectiva en aquellos que cursan con una obstrucción severa y que requieren ventilación mecánica, puede ser utilizada como coadyuvante en el tratamiento de la alcalosis mixta en estos pacientes.⁶⁵ Recientemente se ha encontrado que algunos productos de origen natural como los fenoles/polifenoles, ácidos fenólicos y cumarina también muestran un efecto inhibidor de la enzima, hecho que abre un nuevo panorama en el diseño de moléculas antianhidrasa carbónica.⁶⁶

Anhidrasa carbónica y eritrocito. Las isoformas I y II se encuentran en el eritrocito. La isoforma I está presente en un 85% y en concentraciones sanguíneas de 150 μ M; mientras que la isoforma II se encuentra en menor proporción, tiene una mayor actividad y su tasa de recambio es de 10⁶s⁻¹ a 25°C y a un pH de 9.^{5,67} Las concentraciones fisiológicas de cloro (80 mM) inhiben la actividad de CAI. Esta enzima contribuye a la excreción del CO₂ mediante su hidratación y consecuente conversión a HCO₃⁻, durante la hidratación del CO₂ se producen también protones que son amortiguados por la hemoglobina (Hb), mientras que los iones HCO₃⁻ son transportados hacia el plasma vía la proteína de la banda 3 (también conocida como intercambiador aniónico 1, AE1). Esta reacción se revierte a nivel alveolar, donde el HCO₃⁻ se deshidrata en el eritrocito produciendo CO₂ que es capaz de difundirse a través de un gradiente de presión por la membrana alveolocapilar. Aunado a esto, el eritrocito favorece el abastecimiento de oxígeno (O₂) durante su paso a través del lecho capilar mediante el efecto Bohr, hecho que se favorece gracias al aumento en la velocidad de la reacción determinado por la AC.⁶⁸ Debido a esta importante función, durante mucho

tiempo se consideró, erróneamente, al eritrocito como una bolsa transportadora de O_2 y CO_2 . Actualmente, se sabe que es una de las células más especializadas del organismo, en la que más del 95% de las proteínas citoplasmáticas corresponde a la Hb y cuya fuente principal de energía es proporcionada por la glucólisis, la cual mantiene el glutatión en su forma reducida protegiendo de esta manera a su membrana así como a los grupos sulfhídrido de la Hb, del daño generado por las especies reactivas del oxígeno y nitrógeno (RONS).⁶⁹ Además, se ha mencionado que el eritrocito es capaz de regular el tono vascular vía la liberación de ATP en respuesta a los efectos de hiperoxia e hipercapnia y que esta liberación está linealmente relacionada con la saturación de la Hb,⁷⁰ además de la generación de óxido nítrico vía AC, mediante la utilización de nitrito como sustrato,⁷¹ y de esta forma participar en la regulación de su autodistribución en la microcirculación sobre todo a nivel del músculo esquelético.⁷² Debido a su actividad transportadora de O_2 y CO_2 , el eritrocito está expuesto constantemente a la agresión derivada de las RONS y el equilibrio oxidante/antioxidante que existe en estas células se ve alterado, influyendo en la patogénesis de diversas patologías (i.e. hemoglobinopatías, deficiencia de G6PDH, alteraciones en el metabolismo del zinc),⁷³ propiciando no sólo el daño del mismo eritrocito, sino que podría ser por sí mismo, además, un productor de daño oxidativo para los tejidos circulantes como el endotelio y producir la activación, entre otros, de células fagocíticas, mediadores de inflamación generando de este modo un círculo vicioso.⁷³ Se ha mencionado que el daño del eritrocito ocasionado por las RONS puede generar daño a nivel de la membrana celular secundario a lipoperoxidación y daño por carbonilación de proteínas que intervienen en el sistema enzimático y de este modo distorsionar su actividad así como el de algunas enzimas antioxidantes (e.g. intoxicación por plomo),⁷⁴ en las que el daño oxidativo provocado en los eritrocitos puede degenerar en la producción de autoanticuerpos debido a que éstos adquieren capacidad antigenica que dependiendo de la intensidad, podría degenerar en una enfermedad autoinmune.⁷⁵ Finalmente, la AC podría tener un papel importante en la generación de la placa de ateroma al producir la alcalinización local y favorecer la calcificación de la placa,⁷⁶ de manera similar a lo que pasa en la microlitisas alveolar pulmonar y en la formación de cálculos renales secundarios a la administración crónica de acetazolamida, mencionados anteriormente.

CONCLUSIONES

Si bien es cierto que la AC desempeña un importante papel fisiológico en múltiples tejidos, y que su inhibición

ha sido una importante contribución para el adecuado manejo de algunas patologías; aún queda por explorar con mayor profundidad el papel que juega esta enzima en enfermedades respiratorias, como asma, EPOC, tromboembolia pulmonar e inclusive aterosclerosis y cáncer. Así como, cuál es la función que tiene la expresión de diferentes isoenzimas en un mismo tejido.

REFERENCIAS

1. Meldrum NU, Roughton FJ. *Carbonic anhydrase its preparation and properties*. J Physiol 1933;80:113-142.
2. Eriksson AE, Liljas A. *X-ray crystallographic studies of carbonic anhydrase isozymes I, II, and III*. In: Dodgson SJ, Tashian RE, Gross G, Carter ND, editors. *The carbonic anhydrases. Cellular physiology and molecular genetics*. New York: Plenum Press; 1991.p.385.
3. Supuran CT. *Carbonic anhydrases-an overview*. Curr Pharm Des 2008;14:603-614.
4. Melo V, Cuamatzi O. *Enzimas: conceptos básicos y cinética*. En: Melo VR, Cuamatzi OT, editores. *Bioquímica de los procesos metabólicos*. España: Reverté; 2007.p.360.
5. Supuran CT, Scozzafava A, Casini A. *Carbonic anhydrase inhibitors*. Med Res Rev 2003;23:146-189.
6. Supuran CT. *Carbonic anhydrases: catalytic an inhibition mechanisms, distribution and physiological roles*. In: Supuran TC, Scozzafava A, Conway J, editors. *Carbonic anhydrase: its inhibitors and activators*. USA: CRC Press; 2004.p.363.
7. Sterling D, Reithmeier RA, Casey JR. *Carbonic anhydrase: in the driver's seat for bicarbonate transport*. JOP 2001;2(4 Suppl):165-170.
8. Vince JW, Reithmeier RAF. *Carbonic anhydrase II binds to the carboxyl terminus of human band 3, the erythrocyte Cl⁻/HCO₃⁻ exchanger*. J Biol Chem 1998;273:28430-28437.
9. Sterling D, Reithmeier RA, Casey JR. *A transport metabolon. Functional interaction of carbonic anhydrase II and chloride/bicarbonate exchangers*. J Biol Chem 2001;276:47886-47894.
10. Hill EP, Power GG, Longo LD. *Mathematical simulation of pulmonary O₂ and CO₂ exchange*. Am J Physiol 1973;224:904-917.
11. Maren TH, Swenson ER. *A comparative study of the kinetics of the Bohr effect in vertebrates*. J Physiol 1980;303:535-547.
12. Sly WS, Hu PY. *Human carbonic anhydrases and carbonic anhydrase deficiencies*. Annu Rev Biochem 1995;64:375-401.
13. Casini A, Scozzafava A, Mincione F, Menabuoni L, Staronotti M, Supuran CT. *Carbonic anhydrase inhibitors: topically acting antiglaucoma sulfonamides incorporating esters and amides of 3- and 4-carboxybenzolamide*. Bioorg Med Chem Lett 2003;13:2867-2873.
14. Parkkila AK, Scarim AL, Parkkila S, Waheed A, Corbett JA, Sly WS. *Expression of carbonic anhydrase V in pancreatic beta cells suggests role for mitochondrial carbonic anhydrase in insulin secretion*. J Biol Chem 1998; 273:24620-24623.
15. Mori K, Ogawa Y, Ebihara K, et ál. *Isolation and characterization of CA XIV, a novel membrane-bound*

- carbonic anhydrase from mouse kidney.* J Biol Chem 1999;274:15701-15705.
16. Supuran CT, Briganti F, Tilli S, Chegwidden WR, Scozzafava A. *Carbonic anhydrase inhibitors: sulfonamides as antitumor agents?* Bioorg Med Chem 2001;9:703-714.
 17. Gülcin I, Beydemir S, Büyükokuroğlu ME. *In vitro and in vivo effects of dantrolene on carbonic anhydrase enzyme activities.* Biol Pharm Bull 2004;27:613-616.
 18. Kimoto M, Kishino M, Yura Y, Ogawa Y. *A role of salivary carbonic anhydrase VI in dental plaque.* Arch Oral Biol 2006;51:117-122.
 19. Tarun AS, Bryant B, Zhai W, Solomon C, Shusterman D. *Gene expression for carbonic anhydrase isoenzymes in human nasal mucosa.* Chem Senses 2003; 28:621-629.
 20. Puscas I, Coltau M, Baican M, Domuta G, Hecht A. *Calcium, carbonic anhydrase and gastric acid secretion.* Physiol Res 2001;50:359-364.
 21. Christie KN, Thomson C, Xue L, Lucocq JM, Hopwood D. *Carbonic anhydrase isoenzymes I, II, III, and IV are present in human esophageal epithelium.* J Histochem Cytochem 1997;45:35-40.
 22. Johnston N, Knight J, Dettmar PW, Lively MO, Koufman J. *Pepsin and carbonic anhydrase isoenzyme III as diagnostic markers for laryngopharyngeal reflux disease.* Laryngoscope 2004;114:2129-2134.
 23. Kleinke T, Wagner S, John H, et ál. *A distinct carbonic anhydrase in the mucus of the colon of humans and other mammals.* J Exp Biol 2005;208:487-496.
 24. McKinley DN, Whitney PL. *Particulate carbonic anhydrase in homogenates of human kidney.* Biochim Biophys Acta 1976;445:780-790.
 25. Wistrand PJ, Kinne R. *Carbonic anhydrase activity of isolated brush border and basal-lateral membranes of renal tubular cells.* Pflugers Arch 1977;370:121-126.
 26. Soleimani M, Aronson PS. *Ionic mechanism of Na^+ - HCO_3^- cotransport in rabbit renal basolateral membrane vesicles.* J Biol Chem 1989;264:18302-18308.
 27. Soleimani M, Burnham CE. *Na^+ : HCO_3^- cotransporters (NBC): cloning and characterization.* J Membr Biol 2001;183:71-84.
 28. DuBose TD Jr. *Carbonic anhydrase-dependent bicarbonate transport in the kidney.* Ann N Y Acad Sci 1984;429:528-537.
 29. Seki G, Coppola S, Yoshitomi K, et ál. *On the mechanism of bicarbonate exit from renal proximal tubular cells.* Kidney Int 1996;49:1671-1677.
 30. Tsuruoka S, Swenson ER, Petrovic S, Fujimura A, Schwartz GJ. *Role of basolateral carbonic anhydrase in proximal tubular fluid and bicarbonate absorption.* Am J Physiol Renal Physiol 2001;280:F146-F154.
 31. Igarashi T, Sekine T, Watanabe H. *Molecular basis of proximal renal tubular acidosis.* J Nephrol 2002;15(Suppl 5):S135-S141.
 32. Bringhurst R, Demay MB, Krane SM, Kronenberg HM. *Bone and mineral metabolism in health and disease.* In: Kasper DL, Harrison TR, editors. *Harrison's principles of internal medicine.* 16th ed. USA: McGraw-Hill; 2005.p. 2783.
 33. Gram J, Bollerslev J, Nielsen HK, Larsen HF, Mosekilde L. *The effect of carbonic anhydrase inhibition on calcium and bone homeostasis in healthy postmenopausal women.* J Intern Med 1990;228:367-371.
 34. Sonia HL, Mohamed F, Mohamed B, et ál. *Osteopetrosis with carbonic anhydrase II deficiency: report of 24 cases.* Tunis Med 2005;83:409-413.
 35. Haapasalo J, Nordfors K, Järvälä S, et ál. *Carbonic anhydrase II in the endothelium of glial tumors: a potential target for therapy.* Neuro Oncol 2007; 9:308-313.
 36. Korhonen K, Parkkila AK, Helen P, et ál. *Carbonic anhydrases in meningiomas: association of endothelial carbonic anhydrase II with aggressive tumor features.* J Neurosurg 2009;111:472-477.
 37. Kuo WH, Chiang WL, Yang SF, et ál. *The differential expression of cytosolic carbonic anhydrase in human hepatocellular carcinoma.* Life Sci 2003;73:2211-2223.
 38. Chiang WL, Chu SC, Yang SS, et ál. *The aberrant expression of cytosolic carbonic anhydrase and its clinical significance in human non-small cell lung cancer.* Cancer Lett 2002;188:199-205.
 39. Bekku S, Mochizuki H, Yamamoto T, Ueno H, Takayama E, Tadakuma T. *Expression of carbonic anhydrase I or II and correlation to clinical aspects of colorectal cancer.* Hepatogastroenterology 2000;47:998-1001.
 40. Barnett DH, Sheng S, Charn TH, et ál. *Estrogen receptor regulation of carbonic anhydrase XII through a distal enhancer in breast cancer.* Cancer Res 2008;68:3505-3515.
 41. Nakao M, Ishii G, Nagai K, et ál. *Prognostic significance of carbonic anhydrase IX expression by cancer-associated fibroblasts in lung adenocarcinoma.* Cancer 2009;115:2732-2743.
 42. Gordon SC, Quattrococchi-Longe TM, Khan BA, et ál. *Antibodies to carbonic anhydrase in patients with immune cholangiopathies.* Gastroenterology 1995; 108:1802-1809.
 43. Kino-Ohsaki J, Nishimori I, Morita M, et ál. *Serum antibodies to carbonic anhydrase I and II in patients with idiopathic chronic pancreatitis and Sjögren's syndrome.* Gastroenterology 1996;110:1579-1586.
 44. Karahan SC, Guven S, Mentese A, Bacak A, Kopuz M, Ozeren M. *Serum anti-carbonic anhydrase I and II antibodies and idiopathic recurrent pregnancy loss.* Reprod Biomed Online 2009;19:859-863.
 45. Alver A, Menteşe A, Karahan SC, et ál. *Increased serum anti-carbonic anhydrase II antibodies in patients with Graves' disease.* Exp Clin Endocrinol Diabetes 2007;115:287-291.
 46. Hosoda H, Okawa-Takatsuji M, Shinmura W, Hasimoto N, Ozaki Y, Ikeda Y. *Potential for differential diagnosis of autoimmune pancreatitis and pancreatic cancer using carbonic anhydrase II antibody.* Pancreas 2008;37:e1-e7.
 47. Caccavo D, Afeltra A, Rigon A, et ál. *Antibodies to carbonic anhydrase in patients with connective tissue diseases: relationship with lung involvement.* Int J Immunopathol Pharmacol 2008;21:659-667.
 48. Fleming RE, Moxley MA, Waheed A, Crouch EC, Sly WS, Longmore WJ. *Carbonic anhydrase II expression in rat type II pneumocytes.* Am J Respir Cell Mol Biol 1994;10:499-505.
 49. Crandall ED, O'Brasky JE. *Direct evidence of participation of rat lung carbonic anhydrase in CO_2 reactions.* J Clin Invest 1978;62:618-622.

50. Henry RP, Swenson ER. *The distribution and physiological significance of carbonic anhydrase in vertebrate gas exchange organs*. Respir Physiol 2000;121:1-12.
51. Castellana G, Lamorgese V. *Pulmonary alveolar microthiasis. World cases and review of the literature*. Respiration 2003;70:549-555.
52. Chen J, Lecuona E, Briva A, Welch LC, Sznajder JI. *Carbonic anhydrase II and alveolar fluid reabsorption during hypercapnia*. Am J Respir Cell Mol Biol 2008; 38:32-37.
53. Ciftçi M, Bülbül M, Gül M, Gümüştekin K, Dane S, Sülleyman H. *Effects of nicotine and vitamin E on carbonic anhydrase activity in some rat tissues in vivo and in vitro*. J Enzyme Inhib Med Chem 2005;20:103-108.
54. Lotan D, Eisenkraft A, Jacobsson JM, et ál. *Clinical and molecular findings in a family with the carbonic anhydrase II deficiency syndrome*. Pediatr Nephrol 2006;21:423-426.
55. Barreiro E, Peinado VI, Galdiz JB, et ál; ENIGMA in COPD Project. *Cigarette smoke-induced oxidative stress: a role in chronic obstructive pulmonary disease skeletal muscle dysfunction*. Am J Respir Crit Care Med 2010;182: 477-488.
56. Spicuzza L, Ciancio N, Pellegrino R, et ál. *The effect of inhaled furosemide and acetazolamide on bronchoconstriction induced by deep inspiration in asthma*. Monaldi Arch Chest Dis 2003;59:150-154.
57. Supuran CT, Briganti F, Tilli S, Chegwidden WR, Scozzafava A. *Carbonic anhydrase inhibitors: sulfonamides as antitumor agents?* Bioorg Med Chem 2001;9:703-714.
58. Parkkila S, Rajaniemi H, Parkkila AK, et ál. *Carbonic anhydrase inhibitor suppresses invasion of renal cancer cells in vitro*. Proc Natl Acad Sci USA. 2000;97:2220-2224.
59. Tsai JC, Kanner EM. *Current and emerging medical therapies for glaucoma*. Expert Opin Emerg Drugs 2005;10:109-118.
60. van Patot MC, Leadbetter G 3rd, Keyes LE, Maakestad KM, Olson S, Hackett PH. *Prophylactic low-dose acetazolamide reduces the incidence and severity of acute mountain sickness*. High Alt Med Biol 2008;9:289-293.
61. Imray C, Wright A, Subudhi A, Roach R. *Acute mountain sickness: pathophysiology, prevention, and treatment*. Prog Cardiovasc Dis 2010;52:467-484.
62. Richter A, Hamann M. *The carbonic anhydrase inhibitor acetazolamide exerts antidystonic effects in the dt(sz) mutant hamster*. Eur J Pharmacol 2004;502:105-108.
63. Lyall DA. *Unexpected control of a patient's refractory epilepsy when treating glaucoma with acetazolamide*. Can J Ophthalmol 2008;43:377.
64. Mirza N, Marson AG, Pirmohamed M. *Effect of topiramate on acid-base balance: extent, mechanism and effects*. Br J Clin Pharmacol 2009;68:655-661.
65. Faisy C, Mokline A, Sanchez O, Tadié JM, Fagon JY. *Effectiveness of acetazolamide for reversal of metabolic alkalosis in weaning COPD patients from mechanical ventilation*. Intensive Care Med 2010;36:859-863.
66. Supuran CT. *Carbonic anhydrase inhibition with natural products: novel chemotypes and inhibition mechanisms*. Mol Divers 2010.
67. Behravan G, Jonsson BH, Lindskog S. *Fine tuning of the catalytic properties of human carbonic anhydrase II. Effects of varying active-site residue 200*. Eur J Biochem 1991;195:393-396.
68. Gilmour KM. *Perspectives on carbonic anhydrase*. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol 2010;157:193-197.
69. Çimen MY. *Free radical metabolism in human erythrocytes*. Clin Chim Acta 2008;390:1-11.
70. Ellsworth ML, Ellis CG, Goldman D, Stephenson AH, Dietrich HH, Sprague RS. *Erythrocytes: oxygen sensors and modulators of vascular tone*. Physiology (Bethesda) 2009;24:107-116.
71. Aamand R, Dalsgaard T, Jensen FB, Simonsen U, Roepstorff A, Fago A. *Generation of nitric oxide from nitrite by carbonic anhydrase: a possible link between metabolic activity and vasodilation*. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2009;297:H2068-H2074.
72. Sprague RS, Stephenson AH, Ellsworth ML. *Red not dead: signaling in and from erythrocytes*. Trends Endocrinol Metab 2007;18:350-355.
73. Kieffmann R, Rifkind JM, Nagababu E, Bhattacharya J. *Red blood cells induce hypoxic lung inflammation*. Blood 2008;111:5205-5214.
74. Ergurhan-Ilhan I, Cadir B, Koyuncu-Arslan M, Arslan C, Gultepe FM, Ozkan G. *Level of oxidative stress and damage in erythrocytes in apprentices indirectly exposed to lead*. Pediatr Int 2008;50:45-50.
75. Iuchi Y, Okada F, Onuma K, et ál. *Elevated oxidative stress in erythrocytes due to a SOD1 deficiency causes anaemia and triggers autoantibody production*. Biochem J 2007;402:219-227.
76. Gamble W. *Atherosclerosis: the carbonic anhydrase, carbon dioxide, calcium concerted theory*. J Theor Biol 2006;239:16-21.
77. Parkkila S, Parkkila AK, Juvonen T, Rajaniemi H. *Distribution of the carbonic anhydrase isoenzymes I, II, and VI in the human alimentary tract*. Gut 1994;35:646-650.
78. Arlot-Bonnemains Y, Fouchereau-Peron M, Moukhtar MS, Benson AA, Milhaud G. *Calcium-regulating hormones modulate carbonic anhydrase II in the human erythrocyte*. Proc Natl Acad Sci USA 1985;82:8832-8834.
79. Lönnérholm G, Selking O, Wistrand PJ. *Amount and distribution of carbonic anhydrases CA I and CA II in the gastrointestinal tract*. Gastroenterology 1985;88(5 Pt 1):1151-1161.
80. Sato A, Spicer SS, Tashian RE. *Ultrastructural localization of carbonic anhydrase in gastric parietal cells with the immunoglobulin-enzyme bridge method*. Histochem J 1980;12:651-659.
81. Hageman GS, Zhu XL, Waheed A, Sly WS. *Localization of carbonic anhydrase IV in a specific capillary bed of the human eye*. Proc Natl Acad Sci USA 1991;88:2716-2720.
82. Hilvo M, Tolvanen M, Clark A, et ál. *Characterization of CA XV, a new GPI-anchored form of carbonic anhydrase*. Biochem J 2005;392(Pt 1):83-92.

✉ Correspondencia:

Dra. Martha Patricia Sierra Vargas.

Departamento de Investigación en Bioquímica y Medicina Ambiental, Laboratorio de Bioquímica Inorgánica. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas. Calzada de Tlalpan 4502, colonia Sección XVI. México 14080. Correo electrónico: mpsierra@iner.gob.mx

Los autores declaran no tener conflicto de intereses