

# Roles biológicos del citocromo c: transporte electrónico mitocondrial, muerte celular programada y ganancia de actividad peroxidática

Victoria Colman<sup>1</sup>, Evangelina Costa<sup>1</sup>, Rebeca Chaves<sup>1</sup>, Verónica Tórtora<sup>2\*</sup>

## Resumen

El citocromo c (cyt c) es una pequeña proteína monomérica de 13,0 kDa, que posee carga neta positiva a pH fisiológico. En su estructura se destaca un grupo hemo hexa-coordinado siendo la His18 y la Met80 la quinta y sexta posición de coordinación, respectivamente. Es una molécula soluble que se asocia mediante interacciones electrostáticas a la parte externa de la membrana mitocondrial interna, donde cumple una importante función como transportador de electrones entre los complejos III y IV de la cadena respiratoria mitocondrial, formando parte de una de las rutas catabólicas principales que llevan a la generación de ATP. Además, el cyt c participa en otras dos funciones esenciales para la célula: la apoptosis y la peroxidación de la cardiolipina de membrana. La actividad peroxidasa del cyt c es esencial para el inicio de la apoptosis, debido a que provoca la oxigenación específica de la cardiolipina para producir hidroperóxidos de cardiolipina, necesarios para la liberación de otros factores pro-apoptóticos. Durante la apoptosis, el cyt c se libera desde el espacio intermembrana de la mitocondria hacia el citosol, formando un complejo con APAF-1 y ATP, modulando las vías dependientes de caspasas. Esta función del cyt c también es muy importante ya que la muerte celular programada es un proceso celular fundamental para la correcta eliminación de células dañadas, evitando la diseminación de los restos celulares. La presente monografía pretende reunir información sobre estas tres principales funciones del cyt c, que dejan en manifiesto su importancia para la vida celular.

## Palabras clave

Citocromo c, transporte de electrones, actividad peroxidasa, apoptosis.

## Title

Biological roles of Cytochrome c: mitochondrial electron transport, programmed cell death and gain of peroxidatic activity.

## Abstract

Cytochrome c (cyt c) is a small monomeric protein of 13.0 KDa, which is positively charged at physiological pH. It has an hexa-coordinated heme, being the His18 and Met80 the fifth and sixth

---

1. Estudiante de Medicina, Ciclo de Metodología Científica II, Facultad de Medicina, Universidad de la República. Uruguay. La contribución en la realización del trabajo fue equivalente a la de los demás estudiantes.

2. Docente Supervisor. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay.

\* Contacto: Verónica Tórtora. E-mail: vtortora@mail.fmed.edu.uy

coordination position, respectively. It is a soluble molecule that associates through electrostatic interactions to the outer side of the inner mitochondrial membrane where it plays an important role as an electron carrier between complexes III and IV of the mitochondrial respiratory chain, forming part of one of the main catabolic pathways to generate ATP. Furthermore, cyt c is involved in two other essential cell functions: apoptosis and membrane cardiolipin peroxidation. Cyt c peroxidase activity is essential for the initiation of apoptosis leading to the specific oxygenation of cardiolipin by the production of hydroperoxides of cardiolipin, which are required for the release of other pro-apoptotic factors. During apoptosis, cyt c is released from the intermembrane space of mitochondria into the cytosol, where it forms a complex with APAF-1 and ATP, triggering the caspase-dependent machinery. Summarizing, this function of cyt c is very important in programmed cell death. Thus, it is critical for the proper elimination of damaged cells with failing cellular processes, preventing the spread of debris. This monograph aims to gather information on these three main functions of cyt c, stressing their importance for cell life.

### Key Words

Cytochrome c, mitochondrial electron transfer, peroxidatic activity, apoptosis.

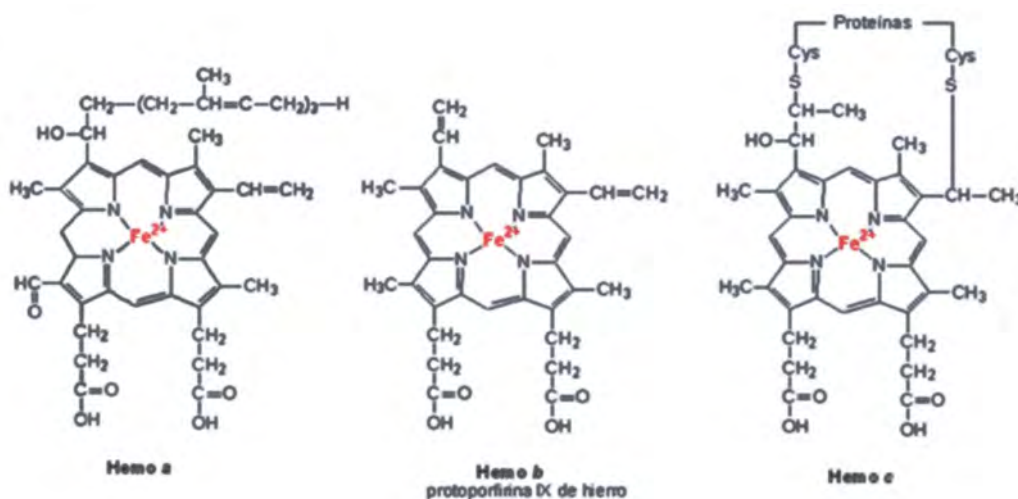
## Introducción

### 1. Generalidades de los citocromos

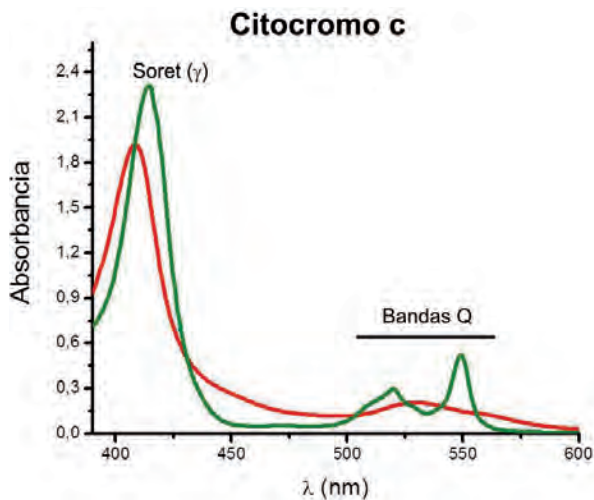
Los citocromos son proteínas que tienen como característica común la presencia de un grupo prostético hemo que contiene hierro. Debido a este grupo hemo estas proteínas tienen una intensa capacidad de absorción de luz visible característica [1].

Cada grupo prostético está formado por cuatro anillos penta-atómicos nitrogenados en una es-

tructura cíclica, llamada porfirina. Los cuatro átomos de nitrógeno están coordinados con un ion de hierro (Fe) central, que puede ser  $\text{Fe}^{2+}$  o  $\text{Fe}^{3+}$ . La hemoprotoporfirina IX se encuentra en los citocromos, como también en la hemoglobina y mioglobina [1]. Este anillo de la porfirina posee un sistema de dobles enlaces conjugados (Figura 1), lo que explica la absorción de luz visible por estos hemos [2].



**Figura 1.** Grupos prostéticos de los citocromos. Se muestran los distintos hemos que pueden encontrarse en los citocromos. El Hemo c corresponde al citocromo c, y se visualiza la unión del anillo de porfirina con dos residuos de Cys. Reproducida con permiso de themedicalbiochemistrypage, LLC.



**Figura 2.** Espectro de absorción del citocromo c. Se muestra al citocromo c en sus formas oxidada (rojo) y reducida (verde). En los espectros se observan las diferentes bandas del citocromo c.

Forma Reducida	Forma Oxidada	$E^{\circ}$ (Volts)
NADH + H <sup>+</sup>	NAD <sup>+</sup>	-0,32
FADH <sub>2</sub>	FAD	-0,05
Citocromo b (Fe <sup>+2</sup> )	Citocromo b (Fe <sup>+3</sup> )	+0,07
Citocromo c1 (Fe <sup>+2</sup> )	Citocromo c1 (Fe <sup>+3</sup> )	+0,23
Citocromo c (Fe <sup>+2</sup> )	Citocromo c (Fe <sup>+3</sup> )	+0,25
Citocromo a (Fe <sup>+2</sup> )	Citocromo a (Fe <sup>+3</sup> )	+0,29
Citocromo a3 (Fe <sup>+2</sup> )	Citocromo a3 (Fe <sup>+3</sup> )	+0,55
H <sub>2</sub> O	O <sub>2</sub>	+0,82

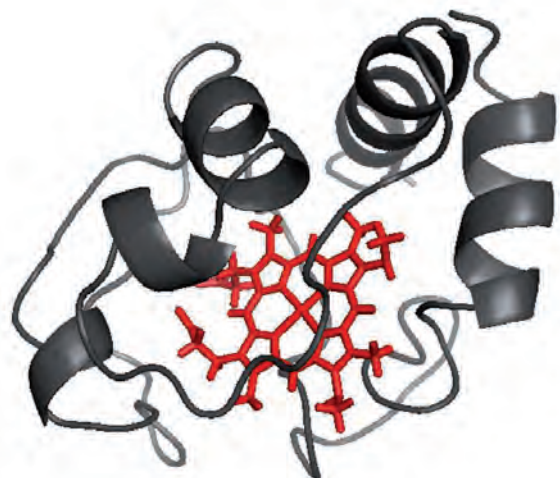
**Tabla 1.** Potenciales de reducción estándar de los transportadores de la cadena respiratoria y otras vías metabólicas relacionadas en la generación de energía, como la glucólisis y el ciclo de Krebs.

El anillo de porfirina es plano y con simetría D<sub>4h</sub>. Posee un sistema de electrones altamente deslocalizados, por lo que existen ciertas transiciones de electrones de lugares ocupados a

lugares vacantes que determina la presencia de bandas espectrales características. Los espectros de absorción de las metaloporfirinas se caracterizan por la presencia de tres bandas,  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  que aparecen de mayores a menores longitudes de onda respectivamente. La banda  $\gamma$  es con frecuencia denominada banda de Soret (Figura 2) [3]. Representa el estado de energía más alto de la proteína [4]. En la mitocondria se pueden encontrar tres grupos de citocromos, a, b y c, según las bandas características de absorción de luz que presenta cada uno en el espectrofotómetro. Cada tipo de citocromo en su estado reducido, o sea con Fe<sup>2+</sup>, tiene tres bandas de absorción en el espectro visible (Figura 2) [1].

En el espectro de absorción, el pico que corresponde a la longitud de onda más larga, está en un valor de aproximadamente 600 nm en los citocromos tipo a, 560 en lo tipo b, y cerca de los 550 en los tipo c [1].

Cada uno de los citocromos forma parte de la cadena respiratoria de la mitocondria, siendo proteínas integrales de la membrana mitocondrial interna, donde participan en el transporte de electrones en la cadena respiratoria, actuando en complejos multienzimáticos, donde en un



**Figura 3.** Estructura del citocromo c. Se muestra un esquema de la estructura del citocromo c donde se destaca su grupo hemo en rojo. La estructura del citocromo c fue obtenida del Protein Data Bank, y la estructura realizada utilizando el programa Pymol (<http://pymol.sourceforge.net>).

número de 4 complejos hay 5 tipos diferentes de citocromos: b, c, c1, a y a3 [1].

El potencial de reducción estándar, que es la capacidad de aceptar electrones, es diferente en cada citocromo, y el valor de cada uno es lo que determina el flujo de electrones en la cadena respiratoria (Tabla 1) [1].

## 2. Estructura del citocromo c

El citocromo c (cyt c) es una proteína pequeña de 13,0 kDa, monomérica, ya que presenta una sola cadena polipeptídica de 104 aminoácidos (Figura 3) [5].

En el cyt c hay un único grupo hemo (Hemo C) que está unido de forma covalente a la proteína por un puente tioéster entre el anillo de porfirina y dos residuos de cisteína en las posiciones 14 y 17 de la cadena polipeptídica (Cys14 y Cys17) [6] (Figura 1). Este grupo hemo está rodeado por residuos hidrofóbicos y se encuentra hexa-coordinado, siendo los residuos de histidina en la posición 18 de la cadena polipeptídica (His18) y la metionina en la posición 80 (Met80) la quinta y sexta posición de coordinación, respectivamente [7]. La Met80 cumple un rol clave en una de las funciones del cyt c, ya que como veremos más adelante es una señal temprana para la apoptosis [7].

## 3. Generalidades de las funciones del citocromo c

El cyt c es una molécula soluble que se asocia mediante interacciones electrostáticas a la parte externa de la membrana mitocondrial interna, cuando su único hemo acepta un electrón, desde el complejo III, y se desplaza hacia el complejo IV para ceder el electrón a un centro de cobre binuclear [1].

La purificación de los citocromos, o sea su aislamiento, es difícil, ya que están insertos en membranas, a excepción del cyt c, que al estar soluble en la membrana interna mitocondrial puede ser aislado por medio de soluciones salinas [1, 7].

El cyt c, así como toda la maquinaria de la respiración, se encuentran tanto en células

aerobias como anaerobias. En la respiración aerobia utiliza O<sub>2</sub> como aceptor final, en la anaerobia utiliza otros compuestos o elementos, como nitratos, sulfatos, azufre, etc. [8]. La función de transporte de electrones de cyt c se encuentra bien establecida, tanto en células procariotas como en eucariotas, donde cumple funciones en la respiración celular [8]. Son las células eucariotas quienes requieren la función de apoptosis del cyt c para su supervivencia [8].

Además de la función en la cadena respiratoria, el cyt c participa en otras dos funciones esenciales en la mitocondria, siendo las mismas la apoptosis y la peroxidación de la cardiolipina (CL) [9]. Las mitocondrias son organelos que se encuentran únicamente en las células eucariotas, siendo responsables de la coordinación de numerosas reacciones metabólicas, como de la generación de energía en forma de ATP a través de la fosforilación oxidativa. Importa también en otras funciones fisiológicas de la célula, como ser el equilibrio del Ca<sup>2+</sup> [10], el mantenimiento del estado redox, y la liberación de metabolitos que regulan vías importantes en el ser vivo, como succinato y  $\alpha$ -cetoglutarato [11], estando ambos involucrados en el ciclo de Krebs [12, 13]. El cyt c, así como participa en vías metabólicas esenciales para la vida de la célula [14], también participa en el mecanismo de muerte celular programada, la apoptosis [15].

La apoptosis constituye una medida fisiológica de eliminación celular, bajo control genético, que se caracteriza por colapso celular, condensación de la cromatina y fragmentación del ADN. Las células apoptóticas son rápidamente fagocitadas por células vecinas o macrófagos, previniendo así una reacción inflamatoria. La apoptosis se ha propuesto como un evento crítico para mantener la homeostasis tisular que asegura el estado de salud de los organismos [16]. Existen dos vías para la inducción de la apoptosis, iniciadas tanto por señales intracelulares, causando la activación de la vía intrínseca de la apoptosis (con liberación del cyt c de la mitocondria), o por señales ex-

tracelulares, activando la vía extrínseca de la apoptosis (con unión a su ligando presente en la membrana plasmática de la célula blanco) [17].

Mediante la ejecución de la vía intrínseca de la apoptosis se producen especies reactivas de oxígeno, y oxidación de la CL, catalizada por el cyt c. Esta oxidación ocurre por el complejo con alta actividad peroxidasa cyt c-CL y representa un objetivo prometedor para el descubrimiento y diseño de fármacos anti-apoptóticos [18].

A modo de conclusión, la mitocondria es muy importante para mantener el equilibrio entre la vida y la muerte celular, siendo el cyt c un factor clave dentro de estas funciones.

## *Funciones del citocromo c*

### 1. Actividad peroxidasa

Una de las funciones principales del cyt c es su actividad peroxidasa. Esta función es de importancia para el inicio de la apoptosis, función que se describe con más detalle en la siguiente sección. El cyt c juega un papel fundamental particularmente en la apoptosis temprana, oxigenando la CL específica para producir hidroperóxidos de CL los cuales son necesarios para la liberación de factores pro-apoptóticos [19].

Para entender la unión del cyt c a la CL debemos hacer referencia en primera instancia a que el cyt c es una proteína con carga positiva (dado que su punto isoeléctrico está cercano a pH 10), situado en el lado exterior de la membrana mitocondrial interna, donde se mantiene por medio de fuerzas electrostáticas [20].

La membrana mitocondrial interna contiene a su vez una gran fracción (hasta 25%), de fosfolípidos cargados negativamente, entre los que se destaca la CL [21].

La molécula de CL es un pequeño componente del lípido total de la membrana [22, 23]. Su principal función es el apoyo a las proteínas de membrana. Asimismo, la CL juega un importante papel en la estabilización estructural y la activación de muchas enzimas mitocondriales, especialmente las que participan en la síntesis de

ATP y la transducción de energía [24-31].

Por lo anteriormente mencionado acerca de su carga positiva, el cyt c se une rápidamente a las membranas aniónicas. Dicha unión se acompaña de un cambio conformacional de la proteína y cambios en su actividad química. De esta manera el desplegado parcial de cyt c tras la interacción con fosfolípidos aniónicos, incluyendo la CL, genera una mayor exposición del grupo hemo, le confiere un aumento en la actividad peroxidasa a la proteína, y el cyt c se convierte en cyt c peroxidasa con capacidad para oxidar otros sustratos incluyendo fosfolípidos y otros lípidos de membrana. Esta oxidación de fosfolípidos de membrana, aumenta la apertura de canales iónicos, poros y transportadores de la membrana mitocondrial, alterando la permeabilidad de la misma [20].

Se puede decir que la función catalítica del cyt c mediante su función peroxidática requiere la interacción directa de su resto hemo con  $H_2O_2$ , por lo tanto requiere la interrupción de la unión de hierro Met80-Fe como se mencionó anteriormente [32].

La Met80 es altamente conservada en cyt c de diferentes especies, junto con los residuos de lisina en las posiciones 72 y 73 de la cadena polipeptídica (Lys72 y Lys73) que son esenciales para las interacciones electrostáticas e hidrofóbicas de la proteína con los fosfolípidos aniónicos [32].

### 2. Apoptosis

La muerte celular programada, o apoptosis, es un proceso celular fundamental que es esencial para el desarrollo y el mantenimiento de la homeostasis. Este proceso se considera como una medida fisiológica de eliminación celular, en la cual las células en apoptosis experimentan cambios en sus membranas que conducen a su reconocimiento y fagocitosis por células normales adyacentes [33].

Su misión es eliminar las células dañadas, infectadas o transformadas. Esta forma de muerte celular o apoptosis se realiza mediante la activación de un programa intrínseco y se caracteriza

por el mantenimiento de las membranas celulares intactas permitiendo su eliminación por fagocitosis [33, 34].

El programa genético de autodestrucción forma parte del repertorio de respuestas celulares a señales externas o a cambios en las condiciones celulares internas [33].

Las células que sufren apoptosis exhiben una morfología característica que incluye condensación citoplasmática y nuclear, la rotura específica de proteínas celulares, la fragmentación de la célula en cuerpos apoptóticos, y la rotura endolítica del DNA en fragmentos oligonucleosómicos [33].

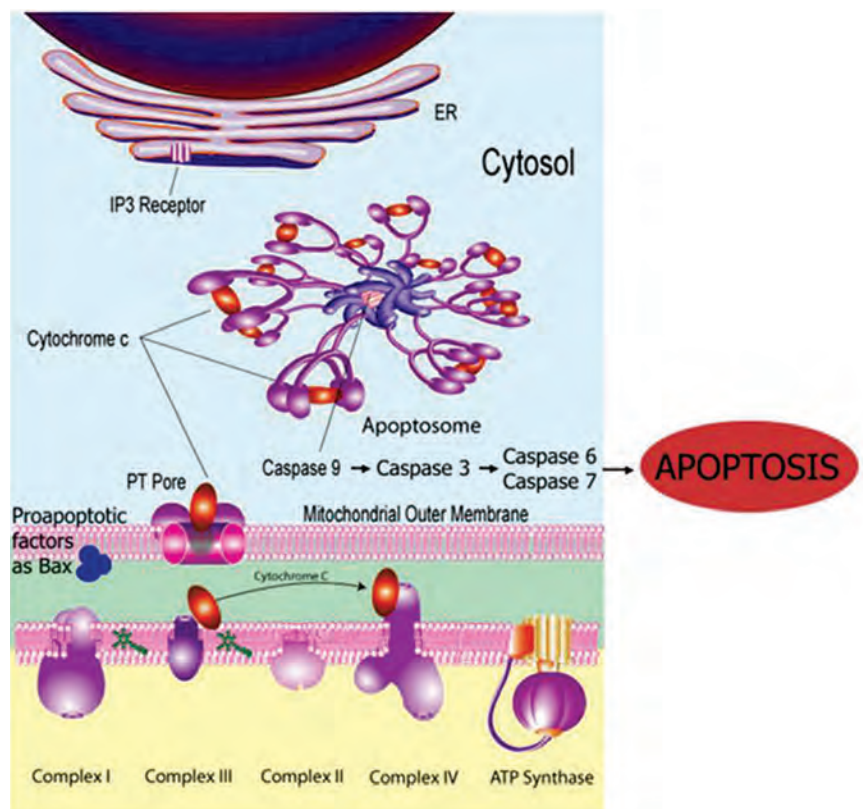
Las señales que desencadenan la apoptosis incluyen: daño celular causado por radiaciones ionizantes, infección vírica o señales extracelulares. La muerte celular programada o apoptosis está mediada por mecanismos celulares intrínsecos [34].

Una de las consecuencias fisiológicas más relevantes de la muerte por apoptosis es que no se libera material intracelular al medio intersticial sino que es fagocitado, como se mencionó anteriormente. Los cuerpos apoptóticos pueden ser fagocitados por macrófagos o incluso por células vecinas [16].

Nos referiremos a las mitocondrias y al cyt c como componentes claves en el mecanismo de apoptosis. Las mitocondrias desempeñan un papel fundamental en la apoptosis, ya que contienen proteínas apoptóticas (denominadas procaspasas), así como el factor

inductor de apoptosis (FIA) [35] y cyt c. Este último se libera al citosol y participa en la activación de estas procaspasas [36, 37]. De esta manera, las mitocondrias tienen la habilidad de promover la apoptosis, dejando salir el cyt c, que junto con la APAF-1 (proteasa apoptótica de la activación de factor-1) y el ATP, forman un complejo (apoptosoma 8), que lleva a la activación de la caspasa 9 y de la cascada de las caspasas [38] (Figura 4).

Las caspasas son las principales efectoras de la apoptosis. Son una familia de proteínas de cistina aspartato proteasas que existen en la célula en una forma inactiva llamada zimógeno. La inducción de la apoptosis por la vía de los receptores de muerte provoca la activación de una caspasa inicial como la 8 o la 10, de manera que estas caspasas activan otras caspasas en cascada. La



**Figura 4.** Esquema de la apoptosis. En la imagen se puede observar como luego de la liberación del citocromo c al citosol este pasa a formar parte del complejo del apoptosoma, hidrolizando la procaspasa-3 a caspasa-3 y desencadenando la apoptosis. Tomada y adaptada de Sigma-Aldrich, cytochrome c.

cascada lleva eventualmente a la activación de las caspasas efectoras 3 y 6. Estas caspasas son responsables mediante el corte de proteínas celulares, de los cambios observados en la apoptosis [39].

En cuanto al cyt c, el mismo es liberado desde el espacio intermembrana de la mitocondria al citosol donde desencadena la cascada. Juega un papel fundamental en las primeras etapas de la apoptosis junto con la CL, cuando la oxigenación produce la hidroxiperoxidación de la CL necesaria para la liberación de los factores proapoptóticos, como se mencionó en la sección de peroxidación. Las interacciones electrostáticas de la CL con el cyt c son fundamentales para el inicio de la actividad peroxidasa, provocando una apertura parcial en la estructura terciaria del cyt c [18].

En el complejo resultante, el cyt c pierde su electrón pero gana una actividad peroxidasa hacia especies poli-insaturadas de CL. La oxidación de CL es esencial para su posterior transducción de señales apoptóticas, facilitando el desprendimiento del cyt c de la membrana mitocondrial y formación del poro de transición de permeabilidad mitocondrial que conduce a la liberación de factores pro-apoptóticos de las mitocondrias al citosol. La actividad peroxidasa de los complejos de CL-cyt c representa una diana prometedor para el descubrimiento de fármacos anti-apoptóticos. El aumento de la actividad peroxidasa está dado, como ya dijimos, tras la unión y parcial despliegue de cyt c por CL, cuando la Met80 se aleja del átomo de hierro hemo y libera el sexto enlace de coordinación de hierro, dando lugar al acceso del sitio catalítico hemo a pequeñas moléculas como  $H_2O_2$  [19].

Debemos hablar de la implicancia de la familia de Bcl-2 en la regulación del proceso por el cual el cyt c desencadena la maquinaria dependiente de caspasas. La Bcl-2 forma parte de una familia de proteínas proapoptóticas como por ejemplo Bax y Bak [40-42]. La función clave de los miembros de la familia de Bcl-2 es regular la liberación de factores proapoptóticos, en particular

el cyt c, desde el compartimento intermembrana de la mitocondria hasta el citosol, dado que constituyen canales o poros de membrana [43, 44].

La liberación de cyt c de la mitocondria seguido de la unión con APAF-1 es un elemento crítico y determina un paso de “no retorno” en la ejecución del programa de la apoptosis [43, 45].

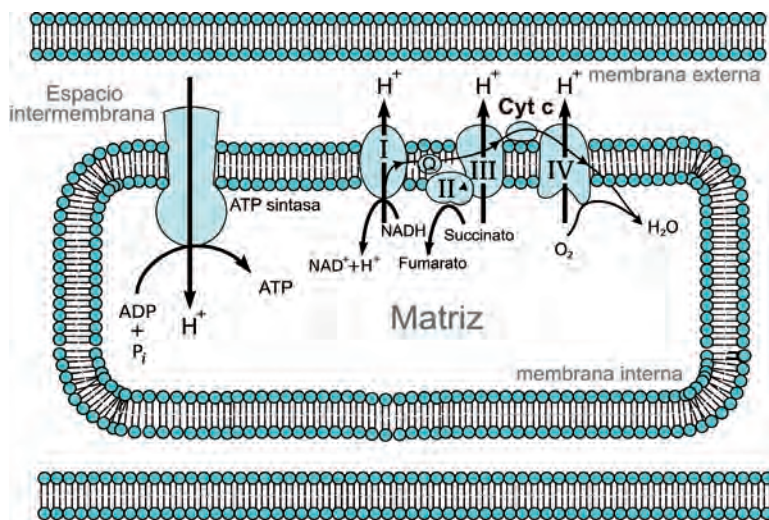
### 3. Respiración Celular

La respiración celular, es uno de los procesos más importantes de la célula, donde hay una serie de procesos de oxido-reducción, obteniéndose de esta forma energía en forma de ATP [46, 47], a través de la degradación de diferentes sustancias orgánicas [1, 48].

La obtención de dicha energía consta de dos etapas en la mitocondria, la primera ocurre en la cadena de transporte de electrones [49, 50], que produce energía libre por diversos procesos que generan un gradiente electroquímico de protones, a través de la membrana interna de la mitocondria, llamado fuerza protón-motriz [51, 52], y la segunda, donde a través de la ATP sintasa, que utiliza ese gradiente, genera ATP [53].

La cadena de transporte de electrones está constituida por los complejos respiratorios mitocondriales (Figura 5) que son los responsables de generar energía en forma de ATP, mediante un sistema también denominado OXPHOS (en referencia al termino en ingles: “oxidation-phosphorilation”) localizado en la membrana interna de la mitocondria [54-56]. El sistema OXPHOS consta de la cadena respiratoria mitocondrial acoplada a la fosforilación oxidativa y estos procesos están compuestos por 5 complejos: I (NADH –ubiquinona oxidorreductasa), II (succinato ubiquinona-reductasa), III (Ubiquinona-Citocromo c-oxidorreductasa) [57], IV (Citocromo c oxidasa) y V (ATP sintetasa) [56].

Las fuentes de energía de la célula provienen de la glucosa, que es metabolizada por glucólisis [58], inicialmente en el citoplasma, dando lugar a la formación de piruvato [59], para continuar su catabolismo en la mitocondria por medio de



**Figura 5.** Componentes de la cadena de transportes de electrones. En la imagen se observa los complejos multienzimáticos por donde transcurre el transporte de electrones junto al citocromo c. Tomada y modificada de "Mitochondrial electron transport chain—Etc4-es". [Bajo dominio público, vía Wikipedia Commons].

diferentes vías, como el ciclo de Krebs. Como resultado final se da la reducción de dos transportadores de electrones:  $\text{FADH}_2$  y  $\text{NADH}$ , que finalmente ceden sus electrones a la cadena de transporte de electrones mitocondrial [1].

Los complejos I y II recogen electrones procedentes del metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas, siendo los equivalentes reducidos de  $\text{NADH}$  los que ingresan por el complejo I, en tanto que los equivalentes reducidos del  $\text{FADH}_2$  lo hacen por el complejo II. Estos se transfieren secuencialmente a la co-enzima 10, complejo III y complejo IV, donde se oxida el  $\text{NADH}$  o  $\text{FADH}_2$ , dando un bombeo de protones al espacio intermembrana, generando un gradiente, conocido como fuerza protón-motriz, produciendo así la fuerza necesaria para que el complejo V (complejo de la ATP sintasa) sintetice ATP a partir de ADP y fosfato [54]. El cyt c es el portador de un único electrón entre los complejos bc<sub>1</sub> (III) al Citocromo c oxidasa (IV) [19, 32], siendo su principal función en la respiración celular [60, 61]. El cyt c, transfiere el electrón a la subunidad II de la citocromo oxidasa (Figura 5), un solo electrón deja

el grupo hemo del cyt c y entra en la subunidad II del complejo IV teniendo como componente redox a los citocromos a y a<sub>3</sub>, y dos centros de cobre, CuA y CuB [13].

### Conclusiones y Perspectivas

En la monografía logramos reunir importante información sobre las principales funciones del cyt c y la relación existente entre ellas construyendo una revisión actualizada de esta importante proteína con funciones variadas y ampliamente diferentes entre sí.

Como perspectivas planteamos seguir informándonos acerca del cyt c y pensamos que se trata de un tema de relevancia del cual seguramente seguirán surgiendo investigaciones en relación a cada una de sus funciones. Además, adentrarnos en las nuevas funciones que se están describiendo en los últimos años sobre el cyt c, y que no incluimos en el presente trabajo de revisión, que incluyen funciones esenciales para la vida de la célula como el atrapamiento de especies reactivas del oxígeno, o su acción acoplada a las proteínas importadoras Erv1-Mia40; o funciones que están implicadas en procesos de deterioro y muerte celular como la participación en la formación de especies reactivas del oxígeno, vía p66<sup>Shc</sup>. Destacamos que la orientadora de este artículo (último autor del mismo) es integrante de una línea de investigación sobre cyt c, que se desarrolla aquí en Uruguay, con colaboraciones internacionales.

Además queda como perspectiva hacer una revisión mayor sobre la relevancia biológica del cyt c, buscando información sobre distintas patologías que pueden presentarse por deficiencias en el funcionamiento del citocromo por distintas modificaciones.



## Referencias

- Nelson DL, Cox MM. *Lehninger Principios de Bioquímica*. 4a ed. Barcelona: Omega; 2006.
- Thony-Meyer L. Biogenesis of respiratory cytochromes in bacteria. *Microbiology and molecular biology reviews* : Microbiol Mol Biol Rev. 1997;61(3):337-76.
- Parra Y, Ferrer RE, Montero K, Martínez M. Espectroscopía de las interacciones de drogas quinolónicas antimaláricas con Fe(III)PPIX Qviva [Internet]. 2011 [consultado 2015 oct 5];10(3). Disponible en: [http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?id\\_revista=160&id\\_ejemplar=8321](http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?id_revista=160&id_ejemplar=8321)
- Ochiai E-I. *Química bioinorgánica: una introducción*. Barcelona: Reverté; 2003.
- Cardellá Rosales L. *Bioquímica humana*. La Habana: Ciencias Médicas; 2007.
- Huttemann M, Lee I, Grossman LI, Doan JW, Sanderson TH. Phosphorylation of mammalian cytochrome c and cytochrome c oxidase in the regulation of cell destiny: respiration, apoptosis, and human disease. *Adv Exp Med Biol*. 2012;748:237-64. [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4614-3573-0\\_10](http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4614-3573-0_10)
- Bertini I, Gori G, Luchinat C, Vila AJ. One- and two-dimensional NMR characterization of oxidized and reduced cytochrome c' from *Rhodocyclus gelatinosus*. *Biochemistry*. 1993;32(3):776-83.
- Madigan MT, Martinko JM, Parker J. *Brock Biología de los microorganismos*. 10a ed. Madrid: Prentice-Hall; 2003.
- Zaidi S, Hassan MI, Islam A, Ahmad F. The role of key residues in structure, function, and stability of cytochrome-c. *Cell Mol Life Sci*. 2014 Jan;71(2):229-55. <http://dx.doi.org/10.1007/s00018-013-1341-1>
- McBride H, Scorrano L. Mitochondrial dynamics and physiology. *Biochim Biophys Acta*. 2013 Jan;1833(1):148-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamer.2012.11.001>
- Stanley IA, Ribeiro SM, Gimenez-Cassina A, Norberg E, Danial NN. Changing appetites: the adaptive advantages of fuel choice. *Trends Cell Biol*. 2014 Feb;24(2):118-27. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tcb.2013.07.010>
- Acin-Perez R, Enriquez JA. The function of the respiratory supercomplexes: the plasticity model. *Biochim Biophys Acta*. 2014 Apr;1837(4):444-50. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbambio.2013.12.009>
- Devlin TM. *Bioquímica. Libro de Texto con aplicaciones clínicas*. 4a ed. Barcelona: Reverté; 2006.
- Liesa M, Shirihai OS. Mitochondrial dynamics in the regulation of nutrient utilization and energy expenditure. *Cell Metab*. 2013 Apr;17(4):491-506. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2013.03.002>
- Galluzzi L, Kepp O, Trojel-Hansen C, Kroemer G. Mitochondrial control of cellular life, stress, and death. *Circ Res*. 2012 Oct 12;111(9):1198-207. <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.112.268946>
- Ortega-Camarillo C, Díaz-Flores M, Avalos-Rodríguez A, Vergara-Onofre M, Rosales-Torres AM. La apoptosis y su importancia biomédica. *Gac Méd Méx*. 2001;137(6):563-77.
- Sanchez-Torres LE, Vargas FD. Apoptosis: el fenómeno y su determinación. *Téc Pecu Méx* 2003;41(1):49-62.
- Jiang J, Bakan A, Kapralov AA, Ishara Silva K, Huang Z, Amoscato AA, et al. Designing inhibitors of cytochrome c/cardioliipin peroxidase complexes: mitochondria-targeted imidazole-substituted fatty acids. *Free Radic Biol Med*. 2014 Jun;71:221–30. <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.02.029>
- Kapralov AA, Yanamala N, Tyurina YY, Castro L, Samhan-Arias A, Vladimirov YA, et al. Topography of tyrosine residues and their involvement in peroxidation of polyunsaturated cardioliipin in cytochrome c/cardioliipin peroxidase complexes. *Biochim Biophys Acta*. 2011 Sep;1808(9):2147–2155. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamer.2011.04.009>

20. Puchkov MN, Vassarais RA, Korepanova EA, Osipov AN. Cytochrome c produces pores in cardiolipin-containing planar bilayer lipid membranes in the presence of hydrogen peroxide. *Biochim Biophys Acta*. 2013 Feb;1828(2):208-12. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamem.2012.10.002>
21. Belikova NA, Vladimirov YA, Osipov AN, Kapralov AA, Tyurin VA, Potapovich MV, et al. Peroxidase activity and structural transitions of cytochrome c bound to cardiolipin-containing membranes. *Biochemistry*. 2006;45(15):4998-5009. <http://dx.doi.org/10.1021/bi0525573>
22. Daum G. Lipids of mitochondria. *Biochim Biophys Acta*. 1985 Jun 12;822(1):1-42. [http://dx.doi.org/10.1016/0304-4157\(85\)90002-4](http://dx.doi.org/10.1016/0304-4157(85)90002-4)
23. Hoch FL. Cardiolipins and biomembrane function. *Biochim Biophys Acta*. 1992 Mar 26;1113(1):71-133. [http://dx.doi.org/10.1016/0304-4157\(92\)90035-9](http://dx.doi.org/10.1016/0304-4157(92)90035-9)
24. Lewis RN, McElhaney RN. The physicochemical properties of cardiolipin bilayers and cardiolipin-containing lipid membranes. *Biochim Biophys Acta*. 2009 Oct;1788(10):2069-79. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamem.2009.03.014>
25. Kagawa Y, Kandrach A, Racker E. Partial resolution of the enzymes catalyzing oxidative phosphorylation. XXVI. Specificity of phospholipids required for energy transfer reactions. *J Biol Chem*. 1973 Jan 25;248(2):676-84.
26. Dale MP, Robinson NC. Synthesis of cardiolipin derivatives with protection of the free hydroxyl: its application to the study of cardiolipin stimulation of cytochrome c oxidase. *Biochemistry*. 1988;27(21):8270-5. <http://dx.doi.org/10.1021/bi00421a042>
27. Arnold S, Kadenbach B. Cell respiration is controlled by ATP, an allosteric inhibitor of cytochrome-c oxidase. *Eur J Biochem*. 1997 Oct 1;249(1):350-4. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1432-1033.1997.t01-1-00350.x>
28. Lange C, Nett JH, Trumpower BL, Hunte C. Specific roles of protein-phospholipid interactions in the yeast cytochrome bc1 complex structure. *EMBO J*. 2001;20(23):6591-600. <http://dx.doi.org/10.1093/emboj/20.23.6591>
29. McAuley KE, Fyfe PK, Ridge JP, Isaacs NW, Cogdell RJ, Jones MR. Structural details of an interaction between cardiolipin and an integral membrane protein. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999 Dec 21;96(26):14706-11. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.96.26.14706>
30. Serrano R, Kanner BI, Racker E. Purification and properties of the proton-translocating adenosine triphosphatase complex of bovine heart mitochondria. *J Biol Chem*. 1976 Apr 25;251(8):2453-61.
31. Hoch FL. Cardiolipins and mitochondrial proton-selective leakage. *J Bioenerg Biomembr*. 1998;30(6):511-32. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1020576315771>
32. McClelland LJ, Mou TC, Jeakins-Cooley ME, Sprang SR, Bowler BE. Structure of a mitochondrial cytochrome c conformer competent for peroxidase activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014 May 6;111(18):6648-53. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1323828111>
33. Angosto MC. Bases moleculares de la apoptosis. *Anal Real Acad Nal Farm*. 2003;69(1):36-63.
34. Pacheco D. Cadena respiratoria. En: Pacheco D. *Bioquímica estructural y aplicada a la medicina*. Instituto Politécnico Nacional; 2001. p. 203-10.
35. Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature*. 2000 Oct 12;407(6805):770-6. <http://dx.doi.org/10.1038/35037710>
36. Kawai C, Pessoto FS, Rodrigues T, Mugnol KC, Tortora V, Castro L, et al. pH-sensitive binding of cytochrome c to the inner mitochondrial membrane. Implications for the participation of the protein in cell respiration and apoptosis. *Biochemistry*. 2009 Sep 8;48(35):8335-42. <http://dx.doi.org/10.1021/bi9006463>
37. Amarante-Mendes GP, Green DR. The

- regulation of apoptotic cell death. *Braz J Med Biol Res* [Internet]. 1999 Sep [consultado 2015 oct 6];32(9):1053-61. Disponible en: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-879X1999000900001&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X1999000900001&lng=en) <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-879X199900090000>
38. Du C, Fang M, Li Y, Li L, Wang X. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. *Cell*. 2000;102(1):33-42. [http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)00008-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674(00)00008-8)
  39. Velasco RC. La apoptosis en biología y patología *Rev Per Cardiol*. 2005;31(2):119-28.
  40. Adams JM, Cory S. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science*. 1998;281(5381):1322-6. <http://dx.doi.org/10.1126/science.281.5381.1322>
  41. Kelekar A, Thompson CB. Bcl-2-family proteins: the role of the BH3 domain in apoptosis. *Trends Cell Biol*. 1998 Aug;8(8):324-30. [http://dx.doi.org/10.1016/S0962-8924\(98\)01321-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0962-8924(98)01321-X)
  42. Reed JC. Bcl-2 family proteins. *Oncogene*. 1998;17(25):3225-36.
  43. Korsmeyer SJ, Wei MC, Saito M, Weiler S, Oh KJ, Schlesinger PH. Pro-apoptotic cascade activates BID, which oligomerizes BAK or BAX into pores that result in the release of cytochrome c. *Cell death and differentiation*. *Cell Death Differ*. 2000 Dec;7(12):1166-73. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.cdd.4400783>
  44. Gross A, Jockel J, Wei MC, Korsmeyer SJ. Enforced dimerization of BAX results in its translocation, mitochondrial dysfunction and apoptosis. *EMBO J*. 1998 Jul 15;17(14):3878-85. <http://dx.doi.org/10.1093/emboj/17.14.3878>
  45. Ortega-Camarillo C, Díaz-Flores M, Avalos-Rodríguez A, Vergara-Onofre M, Rosales-Torres AM. [Apoptosis and its biomedical significance]. *Gac Med Mex*. 2001 Nov-Dec;137(6):563-77.
  46. Chen JQ, Cammarata PR, Baines CP, Yager JD. Regulation of mitochondrial respiratory chain biogenesis by estrogens/estrogen receptors and physiological, pathological and pharmacological implications. *Biochim Biophys Acta*. 2009 Oct;1793(10):1540-70. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamcr.2009.06.001>
  47. Chance B, Williams GR. Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. I. Kinetics of oxygen utilization. *J Biol Chem*. 1955 Nov;217(1):383-93.
  48. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Biología molecular de la célula*. 4a ed. Barcelona: Omega; 2002.
  49. Slater EC. Keilin, cytochrome, and the respiratory chain. *J Biol Chem*. 2003 May 9;278(19):16455-61. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.X200011200>
  50. Keilin D, Hartree EF. Activity of the cytochrome system in heart muscle preparations. *Biochem J*. 1947; 41(4): 500–2.
  51. Ernster L, Schatz G. Mitochondria: a historical review. *J Cell Biol*. 1981 Dec;91(3 Pt 2):227s-55s.
  52. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Molecular biology of the cell*. 4a ed. New York: Garland; 2002.
  53. Robertis EDP de, Sáez FA, Robertis EMF de. *Biología celular*. 9a ed. Buenos Aires: Ate-neo; 1977.
  54. Rubio González T, Verdecia Jarque M. Las enfermedades mitocondriales: un reto para las Ciencias Médicas. *MEDISAN* [Internet]. 2004 [consultado 2015 oct 5];8(1):43-50. Disponible en: [http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol8\\_n1\\_04/san08104.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol8_n1_04/san08104.htm)
  55. Zhou J-S, Wang J-F, He B-R, Cui Y-S, Fang X-Y, Ni J-L, et al. Ginsenoside Rd Attenuates mitochondrial permeability transition and cytochrome c release in isolated spinal cord mitochondria: involvement of kinase-mediated pathways. *Int. J. Mol. Sci*. 2014;15(6):9859-77. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms15069859>

56. Morriss GM, New DA. Effect of oxygen concentration on morphogenesis of cranial neural folds and neural crest in cultured rat embryos. *J Embryol Exp Morphol*. 1979 Dec;54:17-35
57. Hackenbrock CR, Chazotte B, Gupte SS. The random collision model and a critical assessment of diffusion and collision in mitochondrial electron transport. *J Bioenerg Biomembr*. 1986 Oct;18(5):331-68. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00743010>
58. Reichert AS, Neupert W. Mitochondriomics or what makes us breathe. *Trends Genet*. 2004 Nov;20(11):555-62. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tig.2004.08.012>
59. Fernie AR, Carrari F, Sweetlove LJ. Respiratory metabolism: glycolysis, the TCA cycle and mitochondrial electron transport. *Curr Opin Plant Biol*. 2004 Jun;7(3):254-61. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2004.03.007>
60. Yin H, Vergeade A, Shi Q, Zackert WE, Gruenberg KC, Bokiej M, et al. Acetaminophen inhibits cytochrome c redox cycling induced lipid peroxidation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012 Jun 29;423(2):224-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.05.058>
61. Pierron D, Wildman DE, Huttemann M, Letellier T, Grossman LI. Evolution of the couple cytochrome c and cytochrome c oxidase in primates. *Adv Exp Med Biol*. 2012;748:185-213. [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4614-3573-0\\_8](http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4614-3573-0_8)