



BEB 86

BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA

VOLUMEN V

No. 2

JUNIO 1986

EDITORIAL

EL PARADIGMA DE PLANEACION

La planeación en general y en este caso en el contexto académico, puede entenderse como el conjunto de acciones coordinadas cuya misión es, en el marco de una política claramente definida, la optimización del uso de los recursos disponibles con el fin de conseguir el mayor grado de eficiencia y eficacia en la consecución de los fines que persigue la institución. En lo específicamente operacional, implica, una serie de decisiones libres pero racionales que han de reflejarse responsablemente en el diseño de proyectos coherentes, inscritos dentro de los límites empíricos-metodológicos de la factibilidad.

Ahora bien, en una institución como es el caso de nuestra dependencia, la planeación se debe realizar en dos niveles:

1. *El de la microplaneación, en el que,*
 - 1.1 *se definen claramente, las relaciones entre los parámetros A, B y C del paradigma de planeación (fig. 1).*
 - 1.2 *se diseña el proyecto académico-administrativo de la dependencia y el plan general de trabajo.*
2. *El de la microplaneación, en el que,*
 - 2.1 *se definen las características estructurales y funcionales tanto de los proyectos respectivos como las de los modelos implícitos en ellos, y*
 - 2.2 *se diseñan los proyectos operativos derivados del proyecto académico-admini-*

nistrativo.

Todo esto implica que, la planeación y por ende los proyectos que de ella emanan, por sencillos que sean, requieren de una triple justificación:

1. *Una justificación de orden práctico (dar respuesta a necesidades y demandas)*
2. *Una justificación institucional (político-académica) y*
3. *Una justificación metodológica.*

Ahora bien, dadas las características de una institución universitaria como la nuestra, la planeación debe ser participativa y para ello, se requiere que la comunidad de la dependencia, aporte la base empírica de los proyectos, esto es, su experiencia y participe en la elaboración y discusión de éstos, unas veces a través de las instancias estructurales de la dependencia y otras, de una manera colectiva en los foros y reuniones académicas.

Como consecuencia de lo anterior, la planeación y los proyectos inscritos en ella, suponen una triple vertiente de participación:

1. *la de la comunidad involucrada, aportando la base empírica y participando en la elaboración y discusión de los proyectos.*
2. *la de las autoridades, definiendo el marco político-institucional y*
3. *la de los órganos de planeación, dando el apoyo metodológico.*

Esto significa pues que todo proyecto surgido de la planeación, ha de quedar determinado por los tres parámetros del paradigma de la planeación:

COMITE EDITORIAL

GUILLERMO ALVAREZ LLERA
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

ALFONSO CARABEZ TREJO
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

GUILLERMO CARVAJAL
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
Instituto Politécnico Nacional

ALBERTO HAMABATA
Centro de Investigación y Estudios Avanzados
Instituto Politécnico Nacional

JOSE ANTONIO HOLGUIN HUESO
Instituto Nacional de Cardiología
"Dr. Ignacio Chávez"

JESUS MANUEL LEON CAZARES
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

ENRIQUE PIÑA GARZA
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

SERGIO SANCHEZ ESQUIVEL
Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

COORDINADOR EDITORIAL
YOLANDA SALDAÑA DE DELGADILLO
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

CORRESPONSALES
Serafín Aguado (Morelia, Mich.), Ma. Dolores Alvarez Bruneliere (León, Gto.), Humberto Avila Rodriguez (Durango, Dgo.), Alberto Boveris (Buenos Aires, Argentina), Carlos Corredor (Cali, Colombia), Alfredo Delgado (Monterrey, N.L.), Manuel Escobar L. (Zacatecas, Zac), Jesús R. Garcilaso (Hermosillo, Son.), Ma. Cristina González de Mac Swiney, (Mérida, Yuc.), Ma. Guadalupe Oliva Ruiz (Tampico, Tamps.), Ma. Guadalupe Puga (Querétaro, Qro.), Héctor Reyes Leal (Ciudad Juárez, Chih.), José Alberto Rivera Brechu (México, D.F.), Jesús M. Rodríguez (San Luis Potosí, S.L.P.), Alba Marina Valdez de García (Guatemala, Guatemala, C.A.), Manuel Vázquez T. (Santo Domingo, República Dominicana).



FACULTAD DE MEDICINA, U.N.A.M.

DR. FERNANDO CANO VALLE
Director

DR. PABLO MORENO SILVA
Secretario General

C.P. EDUARDO MUÑOZ GONZALEZ
Secretario Administrativo

INDICE

BEB 86 Vol. V Núm. 2 de Junio 1986

EDITORIAL

El paradigma de planeación. Enrique Villarreal Domínguez 33

ARTICULOS

Biosíntesis y procesamiento de los ácidos ribonucleicos. P.G. Nava, P.S. Solís, M.A. Arriaga, R.F. Ortiz, R.O. Coria, R.V. Uribe y L. Díaz de León. 36

Calmodulina como reguladora de múltiples funciones celulares moduladas por calcio Jaime Mas Oliva. 43

Aceptores y donadores de electrones artificiales en la cadena de transporte de electrones fotosintéticos. Blas Lotina y Mauro Cruz 49

Círculo de investigación en Educación Médica 60

Agentes antivirales sintéticos. G. Carvajal 60

Relación entre complicaciones de diabetes mellitus tipo I y la fluorescencia ligada a la colagena. G. Carvajal 61

Caracterización de la p66/p55 como transcriptasa inversa. G. Carvajal 61

Filamentos intermediarios. G. Carvajal ... 62

Anorexia nerviosa y zinc. G. Carvajal ... 63

Instrucciones a los colaboradores del boletín. 64



CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA,

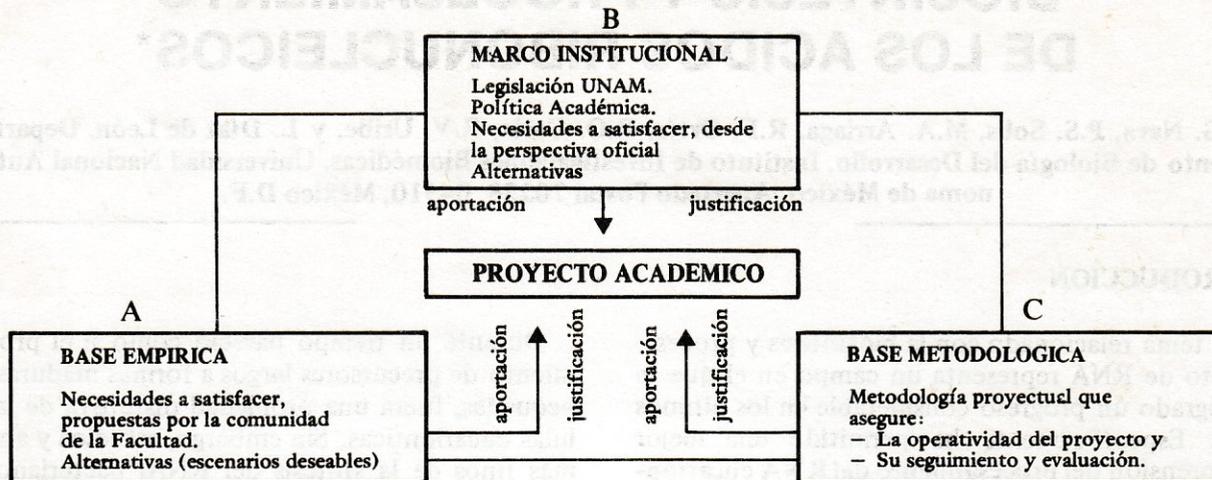
DR. HECTOR MAYAGOITIA DOMINGUEZ
Director General

DR. JESUS GUZMAN GARCIA
Director Adjunto de Desarrollo Científico

DONATIVO PCSACNA-430640

BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA (BEB) es una publicación trimestral editada por el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. Registro en Trámite. Correspondencia: Y. Saldaña de Delgadillo. Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina UNAM. Apdo. Postal 70159. Delegación Coyoacán. 04510 México, D.F.

EL PARADIGMA DE PLANEACION



A. Una base empírica, formada por el conjunto de elementos y relaciones del sistema real abordado, que hay que tomar en cuenta para la elaboración del proyecto.

B. Una política institucional, constituida por el marco jurídico-político que establece los límites, las directrices y las estrategias que marca la institución como normativa para la teoría y la práctica del proyecto, y

C. Una base metodológica, que es el conjunto de modelos y métodos que permiten racionalizar y sistematizar el desarrollo del proyecto.

Al mismo tiempo la relación estructura-función entre los parámetros A, B y C, debe incidir en los proyectos a desarrollar, como criterios para:

1. La captación, análisis e interpretación de las necesidades a satisfacer, para definir objetivos de la planeación y la estrategia de la consecución
2. La interpretación de la política institucional en lo que a los proyectos concretos se refiere y en base a los objetivos de la planeación.
3. El diseño y/o la selección de los modelos y metodologías de apoyo necesarios.

Ahora bien, cada uno de los parámetros que determinan tanto la planeación en general (macroplaneación) como a los proyectos en

particular (microplaneación), se mueven a su vez, dentro de los límites dialécticos definidos que, ponen de manifiesto, la contradicción entre libertad y necesidad, esto es, entre nuestros deseos y las limitaciones reales.

Así pues,

1. La base empírica tiene como límite a,
 - 1.1 la experiencia concreta, frente a
 - 1.2 la prospectiva (escenarios a futuro, deseables);
2. Las políticas institucionales tienen como límites a,
 - 2.1 las exigencias estructurales de los sistemas involucrados en el proceso de planeación frente a
 - 2.2 el marco o normativa institucional (leyes, reglamentos, políticas específicas, etc.), y
3. La base metodológica tiene como límite a,
 - 3.1 las características de la planeación necesaria, frente a
 - 3.2 los instrumentos metodológicos disponibles.

De donde a su vez pueden deducir las normas de coherencia y la evaluación de los proyectos.

Enrique Villarreal Domínguez
Sistema de Universidad Abierta.
Universidad Nacional Autónoma de México.

BIOSINTESIS Y PROCESAMIENTO DE LOS ACIDOS RIBONUCLEICOS*

P.G. Nava, P.S. Solis, M.A. Arriaga, R.F. Ortíz, R.O. Coria, R.V. Uribe, y L. Díaz de León. Departamento de Biología del Desarrollo. Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México. Apartado Postal 70228. 04510, México D.F.

INTRODUCCION

El tema relacionado con la biosíntesis y procesamiento de RNA representa un campo en el que se ha logrado un progreso considerable en los últimos años. Específicamente ha permitido una mejor comprensión del procesamiento del RNA eucariótico desde el descubrimiento del encadenado (splicing). Esta revisión, presenta algunos de los avances recientes en el conocimiento del procesamiento de RNA, en particular del evento del encadenado y compara los conceptos actuales acerca de las vías y mecanismos de procesamiento de las distintas clases de RNA en las células procarióticas y eucarióticas (1).

El primer evento necesario para la síntesis del RNA es la transcripción, la cual tanto en procariontes como en eucariontes sigue un mecanismo similar. En el caso de los RNA mensajeros (RNAm), ésta se inicia por el reconocimiento y unión de la RNA polimerasa (RNAPol) a un sitio promotor, denominado "caja Hogness" en eucariontes. Posteriormente, la polimerasa avanza en dirección 3'5' hasta el sitio de inicio de la transcripción, donde empieza a polimerizar ribonucleótidos complementarios al gene en cuestión. El transcrito finaliza al reconocer una señal de terminación.

En muchos casos los transcritos primarios, no son idénticos a las formas maduras del RNA, sino que sufren varias modificaciones para dar lugar al producto funcional. Dichas modificaciones incluyen principalmente: a) Reacciones nucleolíticas, b) Adición de nucleótidos en los extremos y c) Modificaciones de las bases. Históricamente, la idea sobre el procesamiento del RNA se originó a partir de dos hallazgos sumultáneos. Se observó que la metilación de bases ocurría a nivel del polinucleótido creciente y también que el RNA ribosomal (RNAr) de mamíferos se genera a partir de moléculas precursoras de mayor tamaño.

Durante un tiempo pareció como si el procesamiento de precursores largos a formas maduras más pequeñas, fuera una propiedad distintiva de las células eucarióticas. Sin embargo, estudios y análisis más finos de la síntesis del RNAr bacteriano, demostraron que el procesamiento de RNA también sucede en procariontes. La diferencia principal estriba en que en los procariontes, el proceso es un evento mucho más rápido que en eucariontes, de tal manera que los transcritos primarios son muy difíciles de aislar y de identificar.

RNA POLIMERASAS

La molécula responsable de la síntesis del RNA es la RNA polimerasa (RNAPol), caracterizada con detalle en los procariontes, consiste de cuatro subunidades polipeptídicas (α , α' , β y β') integradas en un núcleo proteico y un péptido independiente denominado factor sigma (σ), el cual se piensa permite a la enzima localizar las regiones promotoras del gene.

En los eucariontes, la transcripción se ha descrito como un evento diferencial porque no es un proceso único sino que se realiza en forma diferente para las distintas clases de RNA y se han aislado tres tipos distintos de moléculas con propiedades de RNAPol. La RNAPol I se ha detectado primordialmente en el nucleolo (tabla I). La RNAPol II se ha localizado preferencialmente en el nucleoplasma y la RNAPol III se encuentra dispersa en el núcleo. La función principal de estas enzimas es la síntesis de los ARN ribosomales, RNA nuclear heterogénea (RNAhn) y del RNA de transferencia (RNAt), respectivamente (2).

Estas polimerasas muestran heterogeneidad estructural, así como en la escala filogenética. Están constituidas por diversas proteínas que varían en tamaño (desde 10 hasta 200 kd). Esta heterogeneidad se pone de manifiesto en la susceptibilidad de

* Esta revisión es el resultado de la evaluación final del tópico selecto correspondiente al Programa de Maestría y Doctorado en Investigación Biomédica Básica del Colegio de Ciencias y Humanidades de la Universidad Nacional Autónoma de México.

TABLA I
CLASIFICACION GENERAL DE LAS RNA POLIMERASAS NUCLEARES

Propiedad	RNA Polimerasa I	RNA Polimerasa II	RNA Polimerasa III
Localización	Nucleolar	Nucleoplásmica	Nucleoplásmica
Porcentaje de la actividad celular total	50 - 70	20 - 40	10
Elución de DEAE-Sephadex por (NH ₄) ₂ SO ₄	~ 0.10 M	~ 0.20 M	0.20 - 0.30 M
Actividad óptima en (NH ₄) ₂ SO ₄	~ 0.05 M	~ 0.09 M	0.05 - 0.17 M
Relación Mn ⁺⁺ /Mg ⁺⁺ para actividades óptimas	1 - 1.5	2 - 5	2
Concentraciones de α-amanitina que produce el 50% de inhibición:			
Mamíferos	400 µg/ml	0.025 µg/ml	20 µg/ml
Insectos	—	0.030 µg/ml	1000 µg/ml
Levaduras	600 µg/ml	1.000 µg/ml	2000 µg/ml

las polimerasas a ser inhibidas por la droga α-amanitina, la cual actúa preferencialmente sobre la polimerasa II, ligeramente sobre la III y muy poco sobre la I.

PROCESAMIENTO DEL RNA DE TRANSFERENCIA

Los RNAt son moléculas relativamente pequeñas, con pesos moleculares que oscilan entre 23 y 28 Kd y coeficientes de sedimentación que van de 4.0-4.5 S. Contienen entre 73 y 93 nucleótidos dependiendo del tipo de RNAt. Además de las bases purínicas y pirimidínicas principales, los RNAt contienen algunos nucleótidos que son modificados químicamente. En el extremo 5' todos los RNAt contienen un resto de ácido guanílico y en el extremo 3' contienen la secuencia CCA.

Los genes para estas moléculas pueden estar aislados o presentarse en grupos formando unidades de transcripción y haber una o varias copias de cada RNAt por genoma haploide. También se ha observado que en algunas especies los RNAt se encuentran como espaciadores de los genes ribosomales 16S y 23S de procariontes.

La transcripción de los genes de RNAt puede dar lugar a moléculas monoméricas con un sólo RNAt o multiméricas con dos o más RNAt. En ambos casos se trata de precursores de RNAt con un mayor

tamaño que la molécula madura y son procesados en una etapa post-transcripcional (fig. 1).

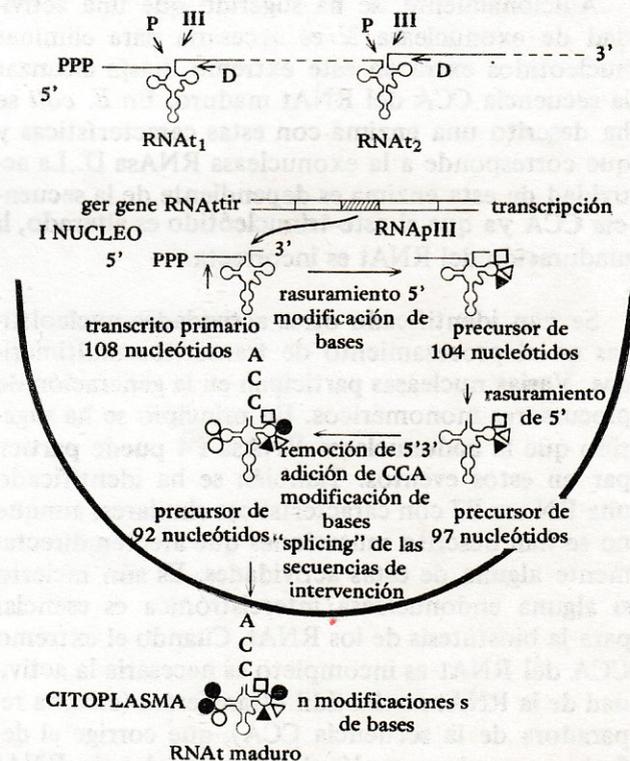


Figura 1. Sitios de acción de las enzimas procesadoras de los precursores de RNAt (ribonucleasas P, III y D). Pasos involucrados en la maduración de los RNAt, así como modificaciones de ciertas bases: (□) 5-metil-citosina, (△) pseudouridina, (▲) 1-metil-adenosina, (○) dihidrouridina, (●) modificaciones no caracterizadas en la guanosina.

Procariontes

Se ha demostrado que solamente una enzima, la ribonucleasa P (RNAsa P), es esencial en la biosíntesis del RNAt en *E. coli*. Esta endorribonucleasa genera los extremos 5' de la molécula madura. Se ha observado que mutaciones que eliminan la actividad de RNAsa P en *E. coli* son letales. Esta enzima parece reconocer una estructura general común en sus sustratos, que está dada por algunos nucleótidos específicos en los RNAt, como se ha demostrado para el trinucleótido CCA del extremo 3'. Si esta secuencia es alterada con o sin la ayuda de enzimas, la actividad de la RNAsa P decrece significativamente. Esta enzima es una ribonucleoproteína y se ha asociado su actividad catalítica al componente de RNA.

También se ha sugerido que la endorribonucleasa RNAsa III puede estar involucrada en el procesamiento del RNAt. Los RNAt del bacteriófago T4 maduran en su extremo 3' por una endonucleasa con actividad parecida a la RNAsa III. Sin embargo, mutantes de *E. coli* que no presentan esta actividad son viables. Se ha demostrado que la RNAsa III efectúa un corte endonucleolítico después de la secuencia CCA terminal.

Adicionalmente, se ha sugerido que una actividad de exonucleasa 3' es necesaria para eliminar nucleótidos extra en este extremo, hasta alcanzar la secuencia CCA del RNAt maduro. En *E. coli* se ha descrito una enzima con estas características y que corresponde a la exonucleasa RNAsa D. La actividad de esta enzima es dependiente de la secuencia CCA ya que si este trinucleótido es alterado, la maduración del RNAt es incorrecta.

Se han identificado otras actividades nucleolíticas en el procesamiento de transcritos multiméricos. Varias nucleasas participan en la generación de precursores monoméricos. En principio se ha sugerido que la endonucleasa RNAsa P4 puede participar en estos eventos. También se ha identificado una RNAsa P2 con características similares, aunque no se han descrito mutaciones que afecten directamente alguna de estas actividades. Es aún incierto si alguna endonucleasa intercistrónica es esencial para la biosíntesis de los RNAt. Cuando el extremo CCA del RNAt es incompleto es necesaria la actividad de la RNAt nucleotidil - transferasa (enzima reparadora de la secuencia CCA), que corrige el defecto y produce moléculas funcionales de RNAt (3).

Otro grupo de enzimas que participan en el pro-

cesamiento del RNAt son las que modifican algún grupo químico en los nucleótidos. Entre ellas se encuentran metilasas, tiolasas, enzimas pseudouridilantes, metilasas de ribosa, hidrolasas, etc. Estas enzimas son extremadamente selectivas en los nucleótidos que modifican. Por ejemplo, en *E. coli* la RNAt transglicosilasa modifica únicamente los residuos G en la primera posición del asa (loop) del anticodón con GUX (donde X puede ser cualquier nucleótido). No se han descrito efectos letales de mutaciones que afecten las enzimas de modificación, sólo en la velocidad de crecimiento y en procesos regulatorios. Por lo que se piensa que estas modificaciones aparentemente alteran las funciones biológicas del RNAt y no su biosíntesis.

Eucariontes

El procesamiento de los RNAt de eucariontes es similar al de procariontes, al menos en cuanto a la presencia de algunas actividades nucleolíticas. Se ha demostrado una actividad de RNAsa P en eucariontes, aunque no se ha caracterizado completamente a la enzima. Al parecer esta actividad enzimática es universal y necesaria en la biosíntesis del RNAt. La existencia de una endonucleasa de procesamiento 3', equivalente a la RNAsa III, ha sido postulada para la maduración de transcritos de RNAt del gusano de seda. En levaduras se ha demostrado una actividad endonucleolítica del tipo de RNAsa III para el procesamiento en el extremo 3', de transcritos producidos por la RNA polimerasa III.

La presencia de una actividad de exonucleasa 3' equivalente a RNAsa D, no ha sido plenamente confirmada en eucariontes. Se han reconocido una serie de exonucleasas de este tipo aunque su actividad parece ser inespecífica (RNAsa II, RNAsa Y).

En adición a estas nucleasas, una RNAt nucleotidil - transferasa es necesaria para agregar la secuencia CCA a los precursores de los RNAt eucarióticos, ya que dicha secuencia no necesariamente está codificada en los genes de RNAt. Sin embargo, la actividad de estas enzimas es esencial para la biosíntesis y funcionalidad de los RNAt.

El único paso metabólico considerado esencialmente eucariótico en la maduración de los precursores del RNAt, es la eliminación de secuencias de intermisión (intrón). Se ha aislado y purificado parcialmente en levaduras, una endorribonucleasa asociada a la remoción de un intrón presente en el precursor de RNAt^{pan}. También se ha demostrado que en ciertos organismos existen mutaciones letales que tienen alterado el mecanismo del encadenado de las secuencias de intermisión, y que a seme-

janza con los organismos procariontes, existe una gran variedad de enzimas modificadoras, que son necesarias para obtener un RNAt funcional (4).

Por otra parte se ha observado que los eventos de la maduración del RNAt^{tr} ocurren en un orden único y estricto. En este caso particular se ha demostrado que la maduración del RNAt empieza al extremo 5' del precursor. La secuencia CCA es añadida hasta que se han madurado ambos extremos del precursor y la remoción del intrón ocurre únicamente después de que ha sido adicionado el trinucleótido CCA. Por otro lado las modificaciones también ocurren en un orden obligatorio, el cual está estrictamente relacionado con las alteraciones en el tamaño del precursor del RNAt. Algunas modificaciones se realizan en precursores que tienen los extremos 5' y 3' inmaduros mientras que otras no ocurren hasta que estos extremos son procesados. Todos los eventos mencionados anteriormente ocurren en el núcleo y no se ha demostrado de manera concluyente que en citoplasma ocurran algunas modificaciones posteriores, excepto por algunas modificaciones químicas de las bases.

PROCESAMIENTO DEL RNA RIBOSOMAL

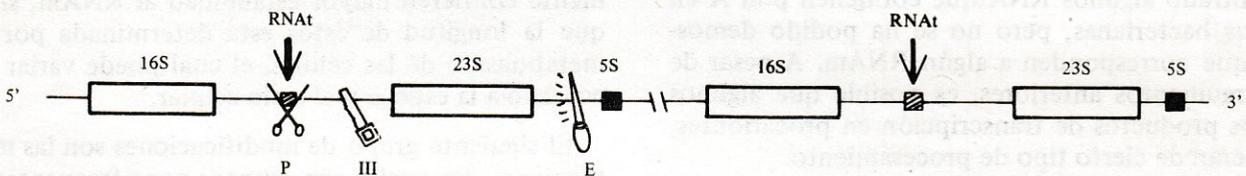
En la mayoría de los organismos los genes que codifican para los RNAr están organizados en varios cientos de copias codificadoras, las cuales se encuentran agrupadas en forma de tandem (extre-

mo 3' de un gene unido al extremo 5' del siguiente) en uno o varios sitios cromosomales. En *E. coli*, las unidades transcricionales que codifican para los RNAt correspondientes a glu, ile y ala, se encuentran en la región espaciadora entre los cistrones correspondientes a las especies 16S y 23S del RNAr (fig. 2A). Las unidades transcricionales en eucariontes contienen los genes que codifican para los RNAr 18S, 5.8S y 28S, transcritos que corresponden en este orden, de acuerdo a un precursor que se transcribe colinealmente (fig. 2B).

Dentro del grupo de enzimas que participan en la maduración de los precursores ribosomales, se encuentran las RNAsas III, E, M5 y P, las cuales actúan en sitios específicos del sustrato. El reconocimiento de los sitios de acción de las ribonucleasas, puede estar dado por la secuencia o presencia de una estructura. En el caso de la RNasa III, esta enzima incide en un sitio cercano al gene correspondiente al RNAr 23S, reconociendo una estructura de doble cadena e hidrolizando al RNA en zonas ricas en G-C. La RNasa M5, que es la responsable de la maduración del RNAr 5S, reconoce su sitio de acción por la conformación particular que adquiere el precursor correspondiente (5).

En el caso de los eucariontes, el gene que codifica para la especie ribosomal mayor (28S), se encuentra interrumpido por intrones, los cuales se transcriben colinealmente. Por lo que respecta al

(A)



(B)

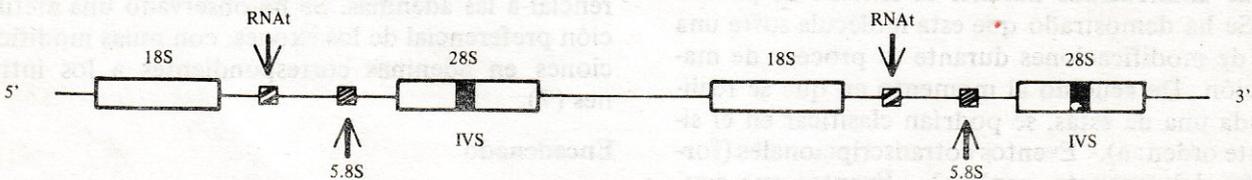


Figura 2. Organización de los genes ribosomales en procariontes (A) y eucariontes (B). Las barras vacías representan las secuencias que codifican para los RNAr maduros de acuerdo con su coeficiente de sedimentación. Las líneas equivalentes a las secuencias que son eliminadas de los precursores durante el procesamiento y las barras sombreadas a las secuencias de RNAt. P, III y E son las enzimas procesadoras. IVS representan los intrones (secuencias de intermisión) presentes en la especie mayor de RNAr (28S) en eucariontes.

mecanismo de encadenado, recientemente se han reportado algunos casos en los cuales se ha observado que éste es autocatalítico. Estudios sobre la especie de RNAr mayor en *Tetrahymena*, han revelado que la única información necesaria para el encadenado está contenida en el mismo intrón, originando así su propio "auto-encadenamiento", sin que sea necesaria la presencia de actividades enzimáticas adicionales. Diferentes estudios y hallazgos sugieren que el mecanismo de "auto-encadenamiento" se encuentra más difundido en la naturaleza, ya que este mismo proceso se ha descrito para los precursores de RNA ribosomal y mensajero en las mitocondrias de levaduras (6).

PROCESAMIENTO DE RNA MENSAJEROS

Procariontes

Es muy poco lo que se conoce del procesamiento de RNA mensajeros en procariontes. Con excepción de algunas especies de fagos, las evidencias acumuladas hasta la fecha sugieren que los RNAm de procariontes están sujetos a un procesamiento mínimo para obtener una molécula madura y funcional. Esta afirmación está basada en las siguientes consideraciones: 1). En los organismos procarionticos los procesos de transcripción y de traducción están estrechamente acoplados, de tal forma que una gran parte de los RNAm son traducidos y algunos parcialmente degradados aun antes que se terminen de transcribir. 2). Tanto la poliadenilación como la metilación, las cuales ocurren durante la biosíntesis de los RNAm eucarióticos, no se observan en los RNA bacterianos. Únicamente se han encontrado algunos RNA que cortienen poli A en células bacterianas, pero no se ha podido demostrar que corresponden a algún RNAm. A pesar de los argumentos anteriores, es posible que algunos de los productos de transcripción en procariontes, requieran de cierto tipo de procesamiento.

Eucariontes

El RNAm es la única molécula transcrita que posee la información necesaria para establecer un orden de aminoácidos durante la síntesis de proteínas. Se ha demostrado que esta molécula sufre una serie de modificaciones durante su proceso de maduración. De acuerdo al momento en que se realiza cada una de estas, se podrían clasificar en el siguiente orden: a).- Eventos cotranscripcionales (formación del casquete, cap), b).- Eventos que ocurren al final de la transcripción (adición del poli A) y c).- Eventos postranscripcionales (metilación y encadenado).

Durante el inicio de la transcripción se lleva a cabo el encasquetado de los mensajeros. La presencia de un casquete 5' terminal 7-metilguanosina, 5' trifosfato-5' N ($m^7-G(5')ppp(5')N$; donde N es un nucleósido no identificado), es un rasgo característico de los RNAm de eucariontes. El encasquetado es una reacción temprana, que ocurre en el extremo 5' fosfato de la cadena naciente del RNAm, inmediatamente después de la iniciación. Esta reacción es catalizada por las actividades de guanilil y metil transferasas, las cuales son enzimas nucleares.

El casquete es retenido durante el procesamiento del transcrito y sirve como elemento estabilizante para el RNAm tanto en el núcleo como en el citoplasma. Se ha demostrado que la presencia del casquete eleva notablemente el proceso de traducción, a través de promover la formación de complejos de iniciación. No obstante, la presencia del casquete no es un evento necesario, ya que se ha observado **que los RNAm de poliovirus, así como de otros virus que infectan células eucarióticas, están exentos de esta modificación.**

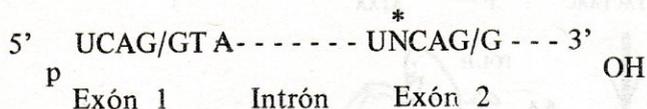
Una vez terminado el transcrito primario, la siguiente modificación que se lleva a cabo, es la adición de un polímero de adenina (poli-A) en el extremo 3' hidroxilo del RNAm. Este polímero puede ser de una longitud variable, aunque se presenta **en promedio como colas (tracks) de 200 bases.** Durante algún tiempo se sugirió que la función de este agregado era servir como estabilizador, facilitador de la exportación del RNAm al citoplasma o estimulador de la eficiencia de la traducción. Sin embargo, en trabajos realizados recientemente, se ha establecido que las colas de poli-A no necesariamente confieren mayor estabilidad al RNAm, sino que la longitud de éstos está determinada por el metabolismo de las células, el cual puede variar de acuerdo a la estirpe y al ciclo celular.

El siguiente grupo de modificaciones son las metilaciones, las cuales son eventos poco frecuentes y se detectan en promedio de 2 a 3 por cada 1 000 nucleótidos. Estas reacciones ocurren tanto en las bases como en los azúcares y se localizan primordialmente en el casquete, así como en la porción central de la molécula, afectando de manera preferencial a las adeninas. Se ha observado una metilación preferencial de los exones, con nulas modificaciones en adeninas correspondientes a los intrones (7).

Encadenado

En los RNAm eucarióticos, los intrones están unidos a los exones en sus extremos 5' y 3' por una secuencia de bases altamente conservada a lo largo

de la escala biológica y en donde se piensa que el encadenado se lleva a cabo:



* N=nucleósido no identificado.

Este tipo de secuencias repetidas permite que el encadenado pueda ocurrir en diferentes marcos de lectura sin que se altere la información codificada en los exones y que es esencial para la respectiva secuencia de aminoácidos durante el proceso de traducción.

Además de estos sitios de encadenado 5' y 3', recientemente se ha reportado otra secuencia altamente conservada en los diferentes intrones. Esta secuencia (T - A - C - T - A - A - C) se encuentra localizada a una distancia de entre 20-50 nucleótidos del sitio de encadenado 3'. Se ha observado que mutaciones que afectan los sitios de encadenado 3' y 5', así como la secuencia TACTAAC eliminan o disminuyen el proceso de encadenado (8).

El primer paso durante el proceso es un corte endonucleolítico en el sitio de encadenado 5' del pre-RNA, precisamente entre las dos guanosinas de la secuencia UCAGGTA, para liberar al exón 1 del extremo 5'. Se ha demostrado que los interme-

dios generados en el encadenado adoptan estructuras características que se han denominado lazos (lariats). En este intermediario la guanosina terminal del extremo 5' se une a la tercera adenina de la secuencia TACTAAC, localizada 20-50 nucleótidos antes del extremo 3'. Esta unión que es del tipo 2'-5', ocurre entre el extremo 5'p de la guanosina y el 2' OH de la ribosa en la adenosina, formando una estructura en forma de lazo. El evento siguiente es el corte endonucleolítico en el sitio de encadenado 3'OH, precisamente entre las 2 guanosinas de la secuencia UNCAGG, la unión por medio de una ligasa, del exón 1 con el exón 2, con la consiguiente salida del intrón (fig. 3).

El corte endonucleolítico que se produce en el exón 1, puede dejar libre a éste y permitir que difunda lejos del sitio de reacción, en tanto tiene lugar el subsiguiente corte entre el intrón y el exón 2. En mamíferos, se piensa que el U1-RNA o su ribonucleoproteína -sn (RNPs_n) correspondiente, podría mantener al exón 1 en la vecindad mientras que ocurre reacción de encadenado ya que se han encontrado secuencias complementarias entre el U1-RNA y el sitio de encadenado 5'p. También, se han demostrado secuencias complementarias entre la secuencia TACTAAC y el sitio de encadenado 3' OH con otro RNA de bajo peso molecular el U2-RNA. Por lo anterior se ha sugerido que una acción combinada de U1-RNA y U2-RNA podrían acercar y mantener en vecindad a las diferentes regiones y secuencias involucradas en la eliminación

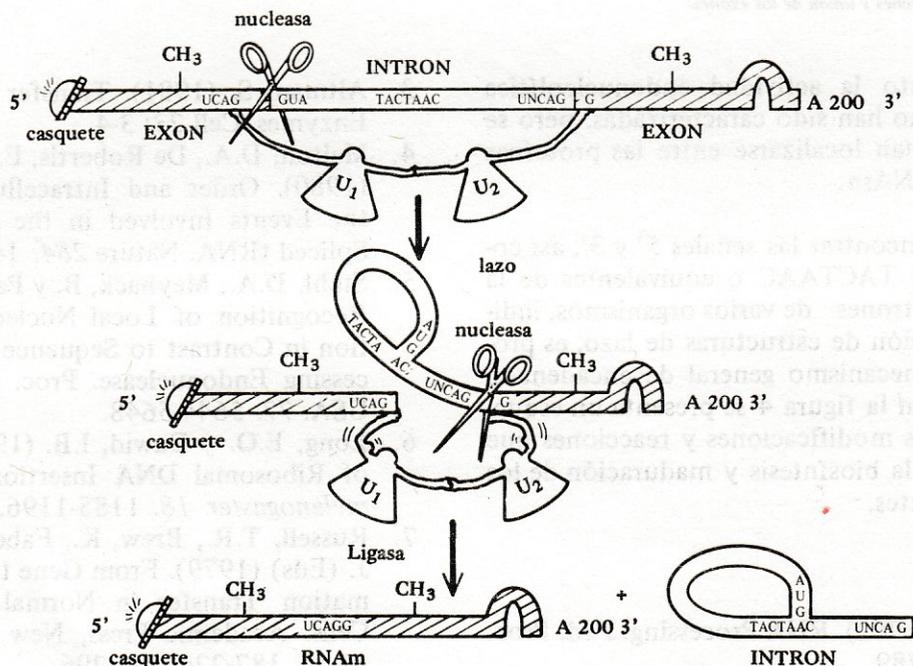


Figura 3. Mecanismo propuesto para el encadenado (eliminación de las secuencias de intermisión y unión de las secuencias codificadas) en RNA y su relación con los complejos ribonucleoproteicos RNP_{sn} (U-1 y U-2). Identificación de las secuencias y sitios de acción de las enzimas que intervienen en el encadenado y estructura propuesta para los intermediarios (lazo).

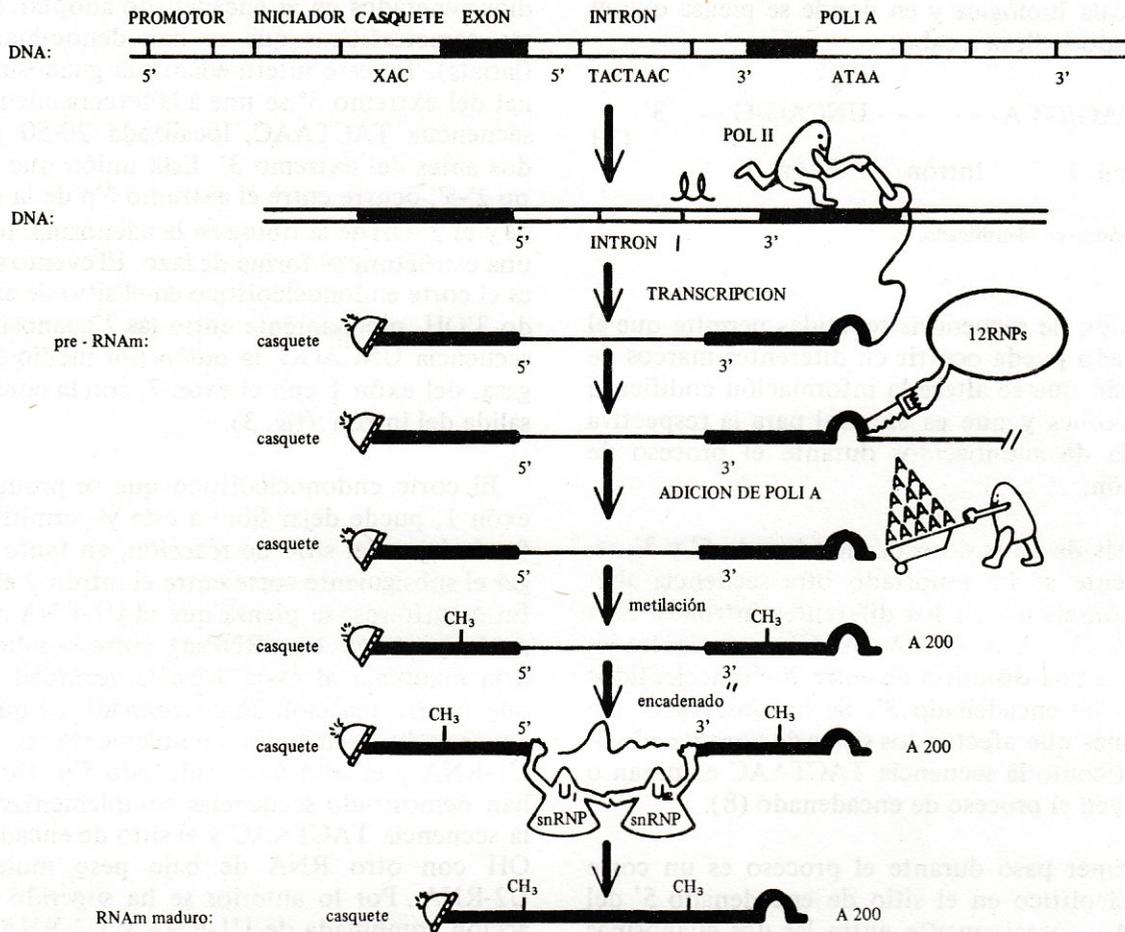


Figura 4. Secuencia de los eventos biosintéticos involucrados en la transcripción y maduración de los RNAm. Pol II: RNA polimerasa II; 12 RNP: RNAsa que libera el sitio de adición de poli A en el extremo 3' terminal; casquete: modificaciones características del extremo 5' terminal; encadenado: eliminación de los intrones y unión de los exones.

del intrón. Tanto la actividad endonucleolítica como la ligasa no han sido caracterizadas, pero se piensa que podrían localizarse entre las proteínas asociadas a los RNAsn.

El hecho de encontrar las señales 5' y 3', así como la secuencia TACTAAC o equivalentes de la misma en los intrones de varios organismos, indica que la formación de estructuras de lazo, es probablemente el mecanismo general de encadenado en los RNAm. En la figura 4 se presenta un esquema general de las modificaciones y reacciones que ocurren durante la biosíntesis y maduración de los RNA de eucariotes.

REFERENCIAS

1. Flint, J.S. (1982). RNA Processing. Fed. Proc. 41: 2781-2789.
2. Lewing, B. (Ed.) (1980). Gene Expression, Vol. 2 Eucaryotic Chromosomes. John Wiley and Sons, New York., pp. 641-957.
3. Altman, S. (1981). Transfer RNA Processing Enzymes. Cell 23: 3-4.
4. Melton, D.A., De Robertis, E.M. y Cortese, R. (1980). Order and Intracellular Location of the Events Involved in the Maturation of a Spliced tRNA. Nature 284: 143-148.
5. Stahl, D.A., Meyhack, B. y Pace, N.C. (1980). Recognition of Local Nucleotide Conformation in Contrast to Sequence by a rRNA Processing Endonuclease. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 77: 5644-5648.
6. Long, E.O. y Dawid, I.B. (1979). Expression of Ribosomal DNA Insertions in *Drosophila melanogaster*. 18: 1185-1196.
7. Russell, T.R., Brew, K., Faber, H. y Schultz, J. (Eds) (1979). From Gene to Protein: Information Transfer in Normal and Abnormal Cells. Academic Press, New York, N.Y. pp. 15-55, 187-224, 271-296.
8. Zeitlin, S. y Efstradiatis, A. (1984). *In Vitro* Splicing Products of the Rabbit β -globin pre-mRNA. Cell 39: 589-602.

CALMODULINA COMO REGULADORA DE MULTIPLES FUNCIONES CELULARES MODULADAS POR CALCIO

Jaime Mas Oliva. Departamento de Bioenergética, Instituto de Fisiología Celular; Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-600; 04510 México, D.F.

INTRODUCCION

Los mecanismos mediante los cuales las diferentes señales dependientes del ión calcio son transformadas en respuestas biológicas, han acaparado en nuestros días una buena parte de la atención de muchos investigadores. Diferentes tipos de estímulos afectando la concentración intracelular de calcio han sido reconocidos como activadores de una multitud de procesos celulares especializados y diferentes actividades enzimáticas relacionadas con estos estímulos. De entre los procesos involucrados, se podría enumerar a los siguientes: contracción muscular, motilidad celular y secreción exocitótica de tejidos endócrinos y exócrinos (1).

Para que se lleve a cabo la transformación o traducción de las señales dependientes de calcio, se postula la existencia de receptores intracelulares para este ión, que pudiera rápida y reversiblemente unir al calcio en un rango de concentraciones fisiológicas existente en el citoplasma de las células en reposo (2). En vista de que este rango de concentraciones se ha descrito puede variar entre 1×10^{-7} M cuando la célula está en reposo y 1×10^{-5} M cuando esta es estimulada electricamente; se ha propuesto que para que estas moléculas receptoras lleven a cabo su función, como requisito indispensable deberán presentar constantes de afinidad altas para el ión calcio.

En vista del esfuerzo empleado durante los últimos años en esta búsqueda, actualmente contamos con una serie de estas moléculas receptoras de calcio y de entre las más estudiadas tenemos las siguientes: troponina C, calciquestrina, parvalbumina, espasmina, proteína S-100, acuorina y calmodulina. De entre las anteriores, tomando en cuenta su amplio espectro de efectos intracelulares probado en diferentes sistemas con diferentes metodologías, la calmodulina ha sido considerada como la molécula de más amplia distribución. Esto principalmente debido a que el resto de estas moléculas receptoras del ión calcio presentan una distribución muy limitada y aunque muy activas, aparentemente sólo están relacionadas

con procesos específicos de ciertos tejidos (3). En vista de sus propiedades y distribución, el péptido calmodulina muy probablemente representa la molécula más antigua de la familia de proteínas que unen calcio; ya que su estructura se ha mantenido casi intacta durante la evolución en el reino animal y algunas plantas superiores. Esta molécula ya ha sido encontrada en la mayoría de los organismos por arriba del nivel de las bacterias, aparentemente encontrándose presente en todos los eucariontes. Calmodulinas aisladas de diferentes fuentes filogenéticas presentan idénticas propiedades bioquímicas, donde un ejemplo consistiría en una secuencia de aminoácidos altamente conservada entre ellas. Debido a esta característica, esta proteína no presenta especificidad de especie ni de tejido; esto se demuestra al encontrar que la calmodulina aislada de protozoarios funciona de manera óptima en sistemas superiores, activando a la enzima fosfodiesterasa de cerebro o a la ATPasa-(Ca^{2+} , Mg^{2+}) de corazón.

IDENTIFICACION Y PROPIEDADES DE CALMODULINA

En 1970, el grupo de Cheung (4) reportó por primera vez que la activación dependiente de calcio de la 3', 5' - nucleótido fosfodiesterasa requería de la presencia de un activador protéico termoestable. A partir de este estudio y de las investigaciones de Wolff y Siegel (5) quienes en 1972 por primera vez purificaron a este factor de extractos de cerebro bovino, el factor activador se ha aislado de diferentes fuentes, donde el testículo y el electroplax u órgano eléctrico del *Electrophorus electricus*, son de los tejidos más ricos en este factor. Durante el período de identificación y purificación de este factor, varios nombres como el de regulador dependiente de Ca^{2+} , proteína similar a troponina C, proteína moduladora, etc., fueron utilizados. Finalmente en 1978 y de nuevo el grupo de Cheung (6), propuso el término calmodulina en vista de las propiedades de esta proteína de modular actividades enzimáticas dependientes de Ca^{2+} , al igual que regular a diferentes movimientos de este ión a través

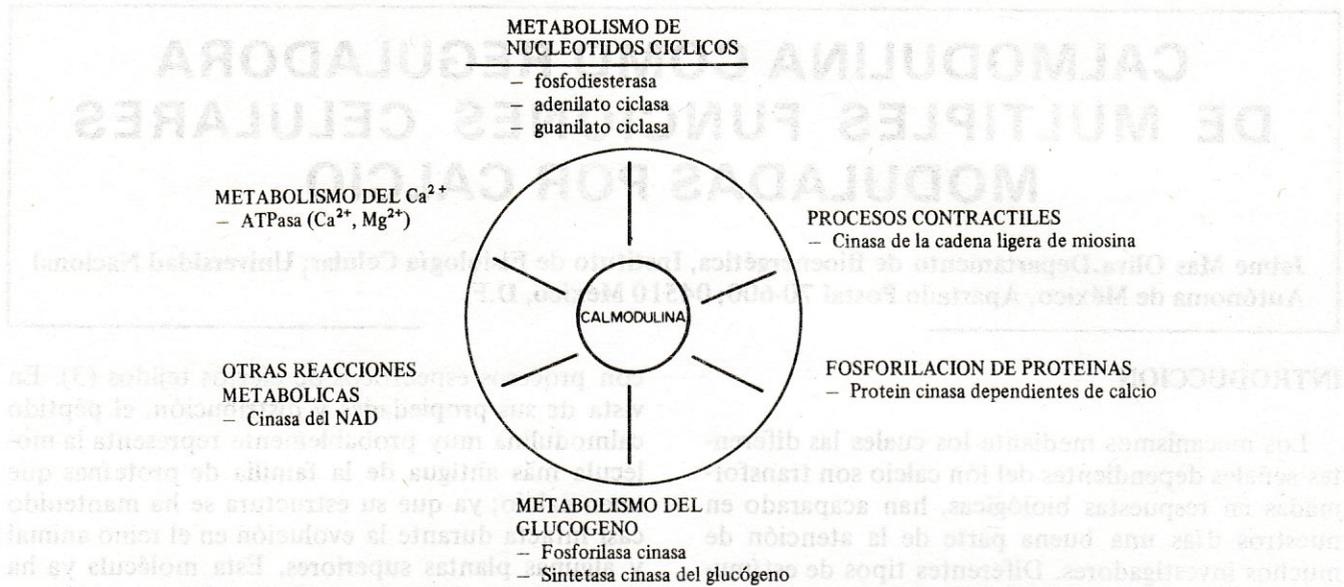


Figura 1. Diferentes funciones celulares de la calmodulina y de las enzimas en las que actúa.

de las membranas. Hasta nuestros días, de entre las actividades enzimáticas moduladas por la calmodulina se han descrito las siguientes: adenilato ciclasa, cinasa de la cadena ligera de la miosina, fosforilasa b cinasa, ATPasa- (Ca^{2+} , Mg^{2+}), cinasa del NAD^+ , sintetasa cinasa del glucógeno y a la fosfodiesterasa de nucleótidos cíclicos (fig. 1). De entre éstas, con excepción de la fosforilasa b cinasa, que presenta un componente endógeno no disociable de la calmodulina se ha demostrado que estas actividades enzimáticas son activadas por acción directa de la calmodulina en una manera disociable y reversible (7).

La molécula de calmodulina es una proteína de 16 500 daltons con una estabilidad térmica bien comprobada en presencia de calcio. Contiene 148 aminoácidos y se caracteriza por la presencia de trimetilisina y la ausencia de cisteína y de triptófano. Su naturaleza fuertemente acídica ha sido empleada con éxito en su purificación que generalmente incluye fraccionamiento con sulfato de amonio, tratamiento con calor, filtración en gel y cromatografía de intercambio iónico.

La calmodulina de vertebrados contiene dos tirosinas en posiciones 99 y 138, lo que aunado a la ausencia de cisteínas y triptófano, ha facilitado enormemente el estudio de la molécula mediante mediciones de su fluorescencia intrínseca. Se ha determinado que Tir_{99} está expuesto al ambiente hidrofílico de la molécula ya sea en presencia o ausencia de Ca^{2+} , en comparación con Tir_{138} que en presencia de calcio desaparece de la región hidrofí-

lica para orientarse hacia una región más hidrofóbica de la molécula. De entre las propiedades espectrales en Tir_{138} , también se incluye un aumento en su emisión de fluorescencia por calcio. La predominancia de aminoácidos acídicos sobre aminoácidos básicos, es a su vez responsable del bajo punto isoelectrónico de la calmodulina, mientras que la alta relación de residuos de fenilalanina sobre los de tirosina le da la propiedad a la molécula de presentar un coeficiente de extinción bajo ($E^{170} = 1.8$).

Mediante la técnica de difracción circular, se ha determinado un grado importante de la molécula en una conformación de α hélice, con la presencia de cuatro sitios con las características necesarias para unir el ión calcio (fig. 2). Estos cuatro sitios de unión para calcio presentan un alto grado de homología en cuanto a su secuencia de aminoácidos. Si se estudia a la molécula empezando por su amino terminal, el grado de homología es mayor entre los sitios II y IV de unión para calcio. Este hallazgo ha sido interpretado como un reflejo del grado de redundancia en el codón de calmodulina de células primitivas que existieron hace millones de años.

Ahora bien, a pesar de existir un acuerdo general, en relación con la estructura, función, origen y propiedades físicas de la calmodulina; la determinación de las diferentes afinidades por calcio de la molécula, ha sido difícil de establecer. De entre los estudios que se han realizado a este respecto, se ha **llegado al acuerdo de la existencia de dos clases de sitios de unión**. Una de ellas uniéndose calcio con valores de K_d (constantes de disociación) variando de

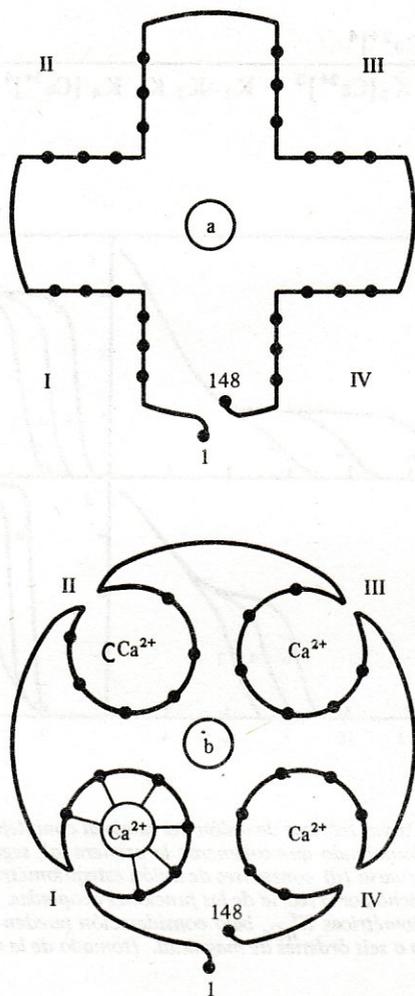


Figura 2. Esquema de la molécula de calmodulina en su forma inactiva (a) y su forma activa (b). I, II, III, IV se refiere al número del sitio de unión de la molécula con el ión calcio. Al aminoácido número 1 le corresponde el amino terminal, mientras que al 148 el carboxilo terminal. Los círculos cerrados corresponden a los aminoácidos con los que se coordina el ión calcio, que por lo general corresponden a glutamato, aspartato y asparagina.

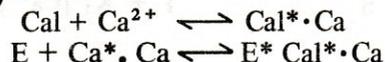
0.2 a 10.0 μM y la otra con valores de K_d de 10.0 a 800 μM ; por lo que en general se habla de 2 sitios de alta afinidad por calcio y los otros 2 sitios de baja afinidad respectivamente. En realidad la discrepancia existente entre los diferentes reportes, muy probablemente está dada por las condiciones y procedimientos empleados para la determinación de las constantes de disociación para el ión calcio (8).

MECANISMO CINÉTICO GENERAL DE ACTIVACIÓN ENZIMÁTICA REALIZADA POR LA CALMODULINA

En el año de 1975, se propuso que el mecanismo de activación enzimática consistía solamente de dos pasos. El primero en la unión de la calmodulina

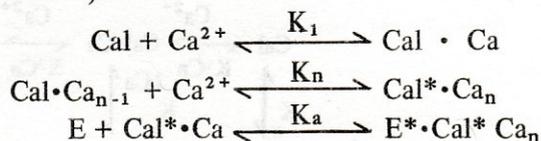
con el ión calcio y el segundo de la unión del complejo calmodulina-calcio con la enzima:

(reacción 1)



donde el complejo $\text{Cal}^* \cdot \text{Ca}$ es considerado como la especie biológicamente activa de calmodulina, E la enzima en condiciones basales y E^* a la misma enzima en forma activada expresando su actividad enzimática máxima. Teshima y Kakiuchi (9) por primera vez demostraron la reversibilidad del complejo y Wolff y Brostrom (10) apoyaron importante este mecanismo de activación al demostrar que a concentraciones subestequiométricas de enzima/calmodulina, incrementos en la concentración de calmodulina añadida al medio de reacción desplaza la curva de sensibilidad del complejo a valores menores de concentración de calcio contenida en el medio de reacción (fig. 3). Sin embargo, a pesar de ser el esquema de la figura 2 teóricamente válido y comprobado *in vivo* utilizando diferentes sistemas, no considera como se realiza la interacción del ión calcio con los sitios de unión bien establecidos de diferente afinidad para este catión, en la molécula de calmodulina. En vista del comportamiento "desproporcionado", como algunos investigadores llaman al evento crítico del cambio de conformación que sufre la calmodulina al volverse biológicamente activa; después de la asociación con más de un átomo de calcio sin cooperatividad aparente del sistema (con excepción de la fosfodiesterasa), el siguiente esquema ha sido propuesto:

(reacción 2)



donde K_1 y K_n son las constantes de unión en la saturación de calmodulina por calcio, y K_a la constante de asociación del complejo activador $\text{Cal}^* \cdot \text{Ca}_n$ con la enzima. Siguiendo este esquema desde el punto de vista termodinámico, esta claro que la unión del calcio a la calmodulina aumenta la afinidad de esta proteína a la enzima, la que a su vez con la formación del complejo enzima-calmodulina aumenta la afinidad del complejo por calcio.

Huang y cols. (11), estudiando la activación de la enzima fosfodiesterasa, obtuvieron una serie de curvas de Lineweaver-Burk utilizando diferentes concentraciones libres de Ca^{2+} como función de la concentración total de calmodulina, de las cuales los valores recíprocos de las pendientes (S) se pueden igualar en la siguiente ecuación:

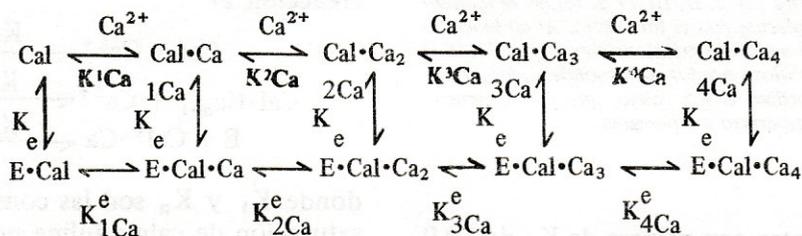
$$\frac{1}{S} = \Delta V_{\max} = \frac{K_1 K_2 K_n [Ca^{2+}]^n \dots + K_1 K_2 K_3 K_4 [Ca^{2+}]^4}{1 + K_1 [Ca^{2+}] + K_1 K_2 [Ca^{2+}]^2 + K_1 K_2 K_3 [Ca^{2+}]^3 + K_1 K_2 K_3 K_4 [Ca^{2+}]^4}$$

(ecuación 1)

donde ΔV_{\max} corresponde a la diferencia entre las velocidades máximas de la enzima en presencia y ausencia de calmodulina a concentraciones saturantes de calcio.

De acuerdo con este tratamiento matemático y a pesar de que este método de cálculo no puede ser utilizado cuando existen más de una especie activa, Huang y cols. modificaron esta ecuación y concluyeron que el complejo $Cal \cdot Ca_4$ debería ser de única especie activa en la activación de la enzima por calmodulina (11). Sin embargo, a pesar de esta importante objeción al trabajo de Huang, actualmente se conoce que tanto para la fosfodiesterasa como para la ATPasa- (Ca^{2+}, Mg^{2+}) y la fosforilasa b cinasa, la especie activa se encuentra en equilibrio entre $Cal \cdot Ca_3$ y $Cal \cdot Ca_4$ (8).

En relación con los eventos fenomenológicos en el complejo terciario $E^* \cdot Cal^* \cdot Ca_n$, varios estudios han sido publicados. De entre éstos, el primer grupo en considerar la activación de la fosfodiesterasa por calmodulina y calcio en base a la llamada teoría del acoplamiento o de funciones aunadas fue el de Wang y cols. en 1980 (12). Ellos proponen el siguiente esquema general:



(reacción 3).

donde $K_1 Ca$, $K_2 Ca$, etc. y $K_1^e Ca$, $K_2^e Ca$, etc., representan a las constantes estequiométricas de la unión de calcio/calmodulina en ausencia y presencia de la enzima respectivamente. K_e , K_e^e , etc., son las constantes de afinidad de las diferentes especies de $Cal \cdot Ca_n$ por la enzima. La figura 4 a su vez presenta a las constantes hipotéticas de asociación del ión calcio en la reacción $E \cdot Cal + n Ca^{2+} \rightleftharpoons E \cdot Cal \cdot Ca_n$, asumiendo diferentes amplitudes en el aumento de la afinidad del primer (a), segundo (b), tercero (c) y cuarto (d) iones de calcio unidos. En ausencia de este catión, la afinidad de la calmodulina por las diferentes proteínas blanco es menor de $10^4 M^{-1}$ (12) y por lo menos 100 000 veces menor que en la presencia de calcio; por lo que a partir de las curvas

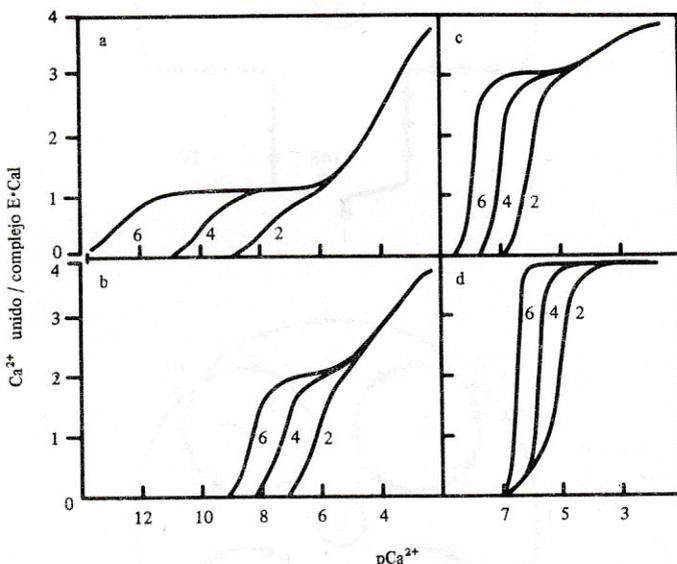
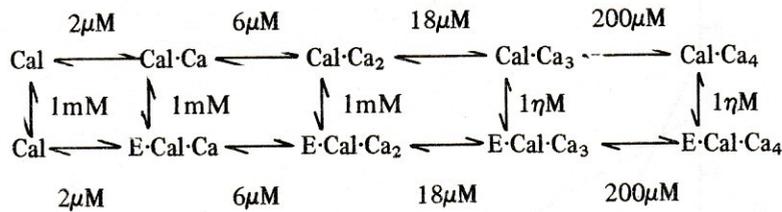


Figura 3. Curvas teóricas de unión del calcio al complejo enzima/calmodulina asumiendo que solamente la primera (a), segunda (b), tercera (c) y cuarta (d) constantes de unión estequiométrica aumentan como predicho por la teoría de las funciones acopladas. Las constantes estequiométricas $K_n^e Ca$ bajo consideración pueden aumentar de dos, cuatro o seis órdenes de magnitud. (tomado de la ref. 10).

presentadas en la figura 1, la determinación exacta de los valores $K^e Ca$ han sido realizados a una muy baja concentración libre de calcio. De esta manera, también el cálculo de las estequiométricas para calcio en el complejo $E \cdot Cal$ ha sido facilitada, ya que valores de saturación aparente se han obtenido en un rango de concentración libre de calcio con diferencias de alrededor de dos órdenes de magnitud.

Este tipo de manejo matemático teórico ya ha sido extrapolado a diferentes sistemas enzimáticos, de donde el siguiente esquema general ha surgido con la importante descripción del mecanismo de activación de la calmodulina.



(reacción 4).

En esta reacción los valores numéricos representan a las constantes de disociación estequiométricas de cada paso. Se puede apreciar que los valores de $K_e^{3\text{Ca}}$ y $K_e^{4\text{Ca}}$ en comparación con K_e , $K_e^{1\text{Ca}}$ y $K_e^{2\text{Ca}}$, 17M y 1mM respectivamente, explican al término de activación donde en presencia de concentraciones de calcio en el rango μM , las especies $\text{Cal}\cdot\text{Ca}_3$ y $\text{Cal}\cdot\text{Ca}_4$ se asocian con la proteína blanco activándose ésta.

CARACTERISTICAS DE ACTIVACION DE LA ATPasa-(Ca^{2+} , Mg^{2+})

Al igual que realizada por diferentes grupos, en nuestro laboratorio desde ya hace algunos años hemos emprendido el estudio de los mecanismos modulares de la ATPasa-(Ca^{2+} , Mg^{2+}) plasmalemal o bomba de calcio por la molécula de calmodulina. Esto lo hemos llevado a cabo tanto en la sarcolema de la célula muscular cardiaca (13) como en la membrana de eritrocitos humanos (14). La ATPasa dependiente de Mg^{2+} activada por Ca^{2+} que es la expresión enzimática de la bomba de calcio, es estimulada por Ca^{2+} de dos maneras; a través del sitio catalítico de la enzima y en el sitio de unión al complejo $\text{Cal}\cdot\text{Ca}^{2+}$.

En presencia de concentraciones micromolares de Ca^{2+} , la ATPasa sarcolemal es activada de manera óptima por calmodulina (fig. 4), esta activación esta dada por un aumento en la velocidad máxima de la enzima así como en una disminución en la K_m para calcio en un factor de 20 aproximadamente. Ahora bien, mientras que ya es bien conocida esta activación de la reacción de hidrólisis de ATP por calmodulina, en nuestro laboratorio por primera vez fue descrita la activación dada por calmodulina de la reacción inversa del ciclo catalítico de la ATPasa o recambio ATP/Pi como reacción intermedia en la síntesis de ATP que cataliza esta ATPasa (13-14). Por lo tanto, aparentemente la acción cinética de la calmodulina sobre este sistema transportador es la de aumentar la velocidad del ciclo catalítico en ambas direcciones, hacia la hidrólisis de ATP y de manera concomitante hacia la síntesis de este nucleótido. Dentro de los cambios de con-

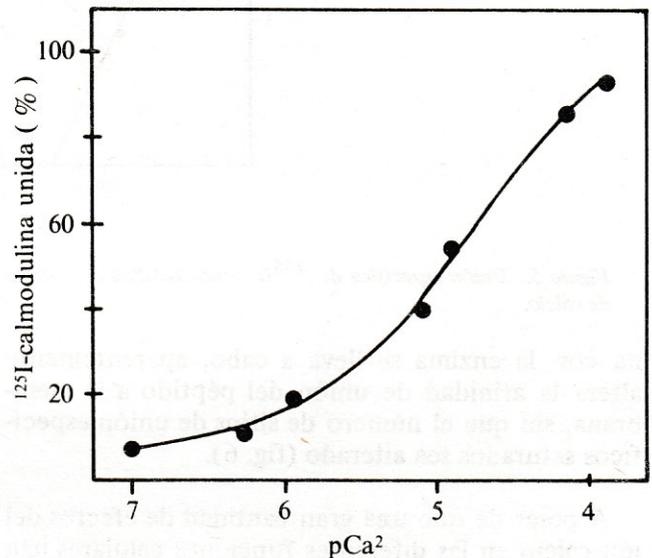


Figura 4. Estimulación de la ATPasa-(Ca^{2+} , Mg^{2+}) sarcolemal de músculo cardíaco por la calmodulina.

formación postulados en la estructura de la enzima al activarse y desactivarse estos sistemas, en base a datos obtenidos mediante preteólisis controlada utilizando tripsina, creemos la ATPasa cambia su conformación cuando la calmodulina se encuentra unida a esta (15).

A partir del reconocimiento del papel multifuncional de la calmodulina sobre diferentes sistemas enzimáticos, el estudio de los mecanismos de interacción del complejo $\text{Cal}\cdot\text{Ca}^{2+}$ con las diferentes enzimas ha cobrado suma importancia. Utilizando una preparación enriquecida de vesículas de sarcolema cardíaco, la figura 5 muestra la unión específica de ^{125}I -calmodulina utilizando un amplio rango en la concentración de Ca^{2+} del medio. Es posible apreciar que en nuestras vesículas el óptimo de unión se obtiene a una concentración de 1×10^{-4} M de calcio, apoyando los datos del requerimiento de una especie activa $\text{Cal}\cdot\text{Ca}_n$ para obtener el óptimo en capacidad hidrolítica (fig. 4). De manera interesante, en nuestro laboratorio también hemos encontrado que un cambio en la hidrofobicidad del medio, donde la reacción de unión de la calmoduli-

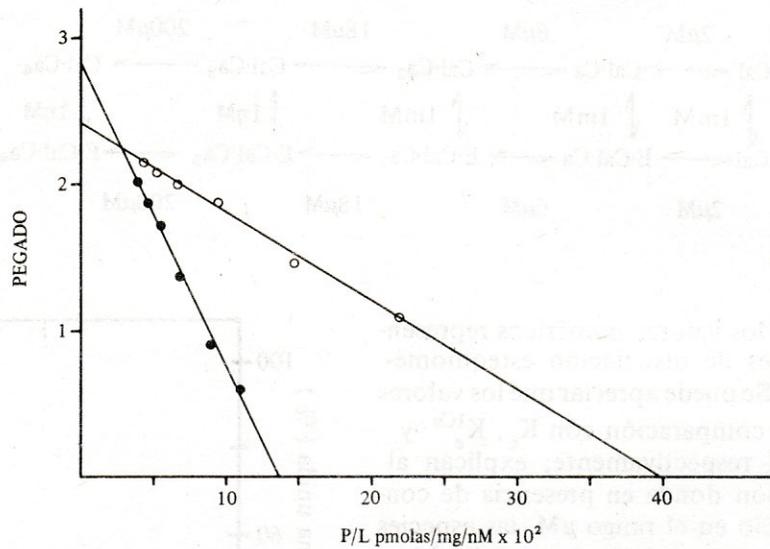


Figura 5. Unión específica de (^{125}I) -calmodulina a vesículas de sarcolema de músculo cardíaco en función de la concentración libre de calcio.

na con la enzima se lleva a cabo, aparentemente altera la afinidad de unión del péptido a la membrana, sin que el número de sitios de unión específicos saturados sea alterado (fig. 6).

A pesar de que una gran cantidad de efectos del ión calcio en las diferentes funciones celulares han sido explorados en los últimos 20 años, los mecanismos de acción moleculares de éstos en nuestros días empiezan a resolverse. Podemos comentar que esto último en gran parte es debido a la intensa investigación que se ha realizado con la calmodulina y otras proteínas que unen al ión calcio.

En relación con los diferentes aspectos reguladores de los diferentes tipos de complejos, muchos puntos deben ser aún resueltos para tener el panorama completo. Entre estos puntos podemos mencionar a los siguientes:

- 1) Identificación de nuevas proteínas que se unen con la molécula de calmodulina.
- 2) Identificación de nuevos receptores para calcio.
- 3) Nuevos factores que pudieran afectar los niveles de calcio citoplásmico.
- 4) Aclaración de la función de las altas concentraciones de calmodulina presente en algunos tejidos.
- 5) Investigación de los factores que regulan la liberación del ión calcio unido a la calmodulina y sus efectos específicos.
- 6) Estudio de las probabilidades de que la calmodulina adopte la misma estructura terciaria al interactuar con diferentes moléculas receptoras.

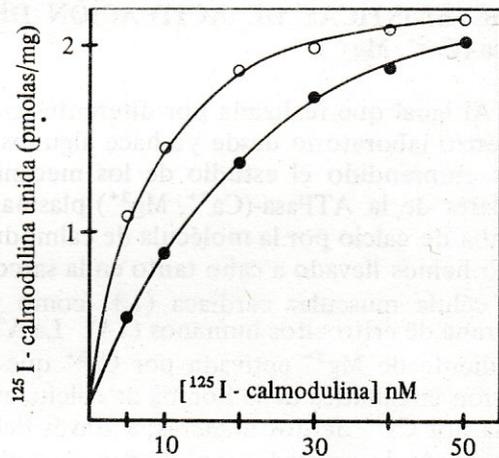


Figura 6. Unión específica de (^{125}I) -calmodulina a vesículas de sarcolema de músculo cardíaco en función de la concentración de la calmodulina utilizando una concentración de calcio de $100\ \mu\text{M}$. Medio de reacción en ausencia (●) o presencia (○) de 40% dimetil sulfóxido.

- 7) Papel regulador de la calmodulina en la compartimentalización del ión calcio en la célula.

La respuesta a estos puntos muy probablemente apoyarán al conocimiento del papel regulador del complejo $\text{Cal}\cdot\text{Ca}_n$ que actualmente ya es considerado como esencial en la regulación del metabolismo celular.

AGRADECIMIENTOS:

Los experimentos presentados fueron en parte apoyados por el CONACyT (proyecto ICSAXNA-001872). Se agradece la colaboración secretarial de la Sra. Ma. Elena Gutiérrez.

REFERENCIAS

1. Calcium and cAMP as Synarchic Messengers (H. Rasmussen, ed.) John Wiley and Sons, New York, N.Y. 1981.
2. Blinks, J.R. Wier, W.G., Hess, P.S. y Prendergast, F.G. (1982). Measurement of Ca^{2+} Concentrations in Living Cells. *Prog. Biophys. Molec. Biol.* 40, 1-114.
3. Calcium and Cell Regulation, Vol. 1, Calmodulin. (W.Y. Cheung, ed), Academic Press, New York, N.Y. 1980.
4. Cheung, W.Y. (1970). Cyclic 3'5'-nucleotide Phosphodiesterase Demonstration of an Activator. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 38, 533-538.
5. Wolff, D.J. y Siegel, F. (1972). Purification of a Calcium-Binding Phosphoprotein from Pig Brain J. *Biol. Chem.* 247, 4180-4185.
6. Cheung, W.Y., Lynch, T.J. y Wallace, R.W. (1978). An Endogenous Ca^{2+} -dependent Activator Protein of Brain Adenylate Cyclase and Cyclic Nucleotide Phosphodiesterase. *Adv. Cyclic Nucleotide Res.* 9, 233-251.
7. Stoclet, J.C. (1981) An Ubiquitous Protein which Regulates Calcium Dependent Cellular Functions and Calcium Movements. *Biochem. Pharmacol.* 30, 1723-1729.
8. Cox, J.A. (1984) Sequential Events in Calmodulin on Binding with Calcium and Interaction with Target Enzymes. *Fed. Proc.* 43, 3000-3004.
9. Teshima, Y. y Kakiuchi, S. (1974). Mechanism of Stimulation of Ca^{2+} Dependent Phosphodiesterase from Rat Cerebral Cortex by the Modulator Protein and Ca^{2+} . *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 56, 489-495.
10. Wolff, D.J. y Brostrom C.O. (1979). Properties and Functions of the Ca^{2+} -dependent Regulator Protein. *Adv. Cyclic Nucleotide Res.* 11, 28-88.
11. Huang, C.Y., Chau, P.B., Chock, J.K., Wang, J.H. y Sharma, R.K. (1981). Mechanism of Activation of Cyclic Nucleotide Phosphodiesterase: Requirement of the Binding of four Ca^{2+} to Calmodulin for Activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 78, 871-874.
12. Wang, J. H., Sharma, R.K., Huang, C.Y., Chau, V., y Chock, P.B. (1980). On the Mechanism of Activation of Cyclic Nucleotide Phosphodiesterase by Calmodulin. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 356, 190-204.
13. Mas-Oliva, J., de Meis, L. e Inesi, G. (1983). Calmodulin Stimulates both ATP Hydrolysis and ATP Synthesis Catalized by a Cardiac Ca^{2+} -ATPase. *Biochemistry*, 22, 5822-5825.
14. Mas-Oliva, J. (1985) Syntesis of ATP Catalyzed by the (Ca^{2+} , Mg^{2+})-ATPase from Erythrocyte Ghosts. *Biochim. Biophys. Acta* 12, 163-167.
15. Mas-Oliva, J. y Varela, Ma. E. (1987) Conformational Changes Caused by Calmodulin and Calcium in The Cardiac Microsomal (Ca^{2+} , Mg^{2+})-ATPase during The Cycle ATP-Hydrolysis/ATP-Synthesis. *J. Mol. Cellular Cardiol.* 19, 39-46.

ACEPTORES Y DONADORES ARTIFICIALES DE ELECTRONES EN LA CADENA DE TRANSPORTE DE ELECTRONES DE LA FOTOSINTESIS

Blas Lotina¹ y Mauro Cruz². ¹Depto. de Bioquímica Vegetal, ²Depto. de Fisicoquímica. División de Estudios de Posgrado, Facultad de Química, UNAM 04510, México, D.F.

RESUMEN

Los aceptores y donadores de electrones artificiales son compuestos que efectúan reacciones oxidorreductoras con algún componente de la cadena de transporte en el cloroplasto. Los aceptores son reducidos en algún sitio de la cadena, ya sea a nivel del fotosistema I o del II clasificándose por eso co-

mo A_1 y A_2 respectivamente. Los donadores artificiales de electrones son oxidados también en varios sitios del sistema de transporte, clasificándose de la misma forma como D_1 y D_2 .

Los aceptores o donadores artificiales de electrones que sean ideales deben reunir ciertas características para actuar como tales: tener un potencial re-

dox adecuado para poder efectuar una reacción de oxidorreducción con el que va a ser pareja que puede ser algún acarreador natural de la cadena oxidorreductora, las propiedades de solubilidad en la membrana de los tilacoides y lamelas sean adecuadas para que tenga accesibilidad a tal o cual acarreador natural, otras propiedades de los aceptores y donadores de electrones artificiales son tamaño molecular, reactividad química, etc. Los estudios con aceptores artificiales de electrones en la cadena oxidorreductora de electrones en la fotosíntesis ha generado información acerca de la secuencia de los acarreadores de electrones de la cadena, de las zonas de conservación de energía cuando se midieron segmentos de ella, con el uso de aceptores y donadores de electrones, estos estudios están aunados al uso de inhibidores del flujo de electrones. Finalmente, los aceptores y donadores artificiales de electrones ya sean hidrosolubles o liposolubles, han contribuido a entender la topografía de los acarreadores en la membrana de los tilacoides y lamelas del cloroplasto .

Las reacciones de transporte de electrones en la cadena oxidorreductora o reacción de Hill son dependientes de luz y forman parte de la fotosíntesis, éstas pueden medirse de diferentes formas, ya sea cuantificando la reducción o la disminución del estado oxidado de los aceptores artificiales por métodos espectrofotométricos o midiendo los cambios de concentración de oxígeno que se desprende en el sistema al fotolizarse el agua.

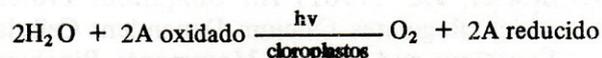
En sistemas en los cuales la medición no se puede efectuar de esta forma, como en el flujo cíclico de electrones, se mide la velocidad de síntesis de ATP asociada al transporte de electrones.

INTRODUCCION

Los aceptores y donadores artificiales de electrones y los inhibidores artificiales del transporte de electrones se han utilizado como un modelo bioquímico para elucidar los componentes, la secuencia y la topografía de la cadena transportadora de electrones en membranas biológicas. El estudio de los aceptores de electrones en la fotosíntesis empezó desde 1937 cuando Robert Hill descubrió que el sitio donde se capta la radiación electromagnética del sol y se transforma en energía química, esta localizado en los cloroplastos. Además, Hill separó las reacciones llamadas oscuras (ciclo de Calvin, que se lleva a cabo en la fase acuosa llamada estroma del cloroplasto) de las llamadas reacciones luminosas (reacciones de oxido-reducción localizadas en la membrana). Otro de los hallazgos importantes

del Dr. Hill es que los cloroplastos iluminados desprenden oxígeno, aunque sin asimilación de CO_2 en presencia de una sal férrica adecuada. Así, esta sal férrica fue el primer oxidante artificial utilizado para el estudio de la fotosíntesis. Posteriormente se descubrieron más aceptores artificiales de electrones como la para-benzoquinona y las sales de biperidilio. Finalmente se descubrió al aceptor natural de electrones de la cadena oxidorreductora fotosintética, que es la NADP^+ , éste es uno de los productos de la fase luminosa, que finalmente reduce al CO_2 para su biosíntesis a carbohidratos. Ahora se sabe que los cloroplastos que aisló el Dr. Hill estaban rotos, por lo tanto carentes de las enzimas del ciclo de Calvin, incapaces así de reducir al CO_2 .

En honor a su descubridor, las reacciones de reducción de aceptores naturales y artificiales de electrones por los cloroplastos, se les llama ahora reacciones de Hill y se definen como la fotorreducción de un aceptor natural o artificial de electrones a expensas de la fotooxidación del agua, a través de la cadena oxidorreductora, además produciéndose oxígeno, dando la siguiente reacción:



CADENA OXIDORREDUCTORA DE TRANSPORTE DE ELECTRONES EN LA FOTOSINTESIS

Los datos de la literatura indican que los acarreadores de electrones y los pigmentos cosechadores de luz, así como los complejos proteínas-pigmentos cosechadores de luz, están localizados en las membranas tilacoidales de los cloroplastos. Estas reacciones participan en la reducción fotosintética del NADP^+ a expensas de la fotooxidación del agua. El término de cadena transportadora de electrones se usa para calificar al sistema constituido por los componentes que catalizan el flujo de electrones desde el nivel del potencial redox del agua hasta el del NADP^+ .

En las siguientes figuras se representa la cadena de transporte de electrones, en forma lineal (fig. 1), de acuerdo con los potenciales de los acarreadores o diagrama "Z" (fig. 2) y con su posición y la localización de los acarreadores en la membrana (fig. 3).

En la figura 1 podemos observar que los donadores (D_1 y D_2) y los aceptores (A_1 y A_2) de electrones en la reacción de Hill pueden ser oxidados o reducidos en diferentes puntos de la cadena. Cuando se usan donadores artificiales (D_2), se puede prescindir del agua como donadora (tabla I a IV).

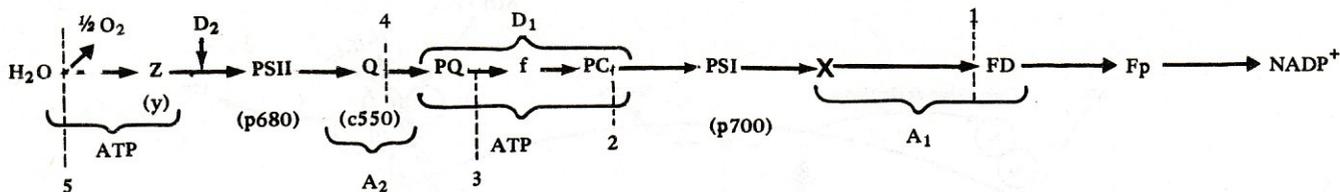


Figura 1. Cadena oxidorreductora de transporte de electrones acíclica representada en forma lineal. Las líneas punteadas enumerados con números arábigos indican los sitios de inhibición de flujo de electrones. Los sitios de aceptación y donación de electrones se representan como A_1 y A_2 y D_1 y D_2 respectivamente.

La importancia del uso de aceptores, donadores e inhibidores del flujo de electrones radica en poder separar funcionalmente tramos de la cadena, así en el fotosistema II (PS-II) los electrones fluyen del agua hasta Q o PQ en presencia de inhibidores que actúan en los sitios 4 o 3 respectivamente, en combinación con aceptores artificiales del tipo A_2 o A_3 y donadores artificiales de tipo D_2 o natural como el agua. El flujo de electrones en el fotosistema I (PS-I) se separa inhibiendo el PS-II en el sitio 3 con DCMU o en el 4 con DBMIB, en combinación con donadores artificiales del tipo D_1 y aceptores artificiales del tipo A_1 o un aceptor natural como el $NADP^+$.

res o donadores de electrones, para realizar reacciones redox. De esta forma, tenemos por ejemplo, que el PS-I podría reducir compuestos con un potencial más positivo a $-0.6V$ y oxidar compuestos con potenciales más negativos de $+1.0V$. Cabe hacer notar que la especificidad de los aceptores o donadores artificiales de electrones por un sitio, depende de un potencial redox adecuado de estos compuestos, de modo que formen pareja oxidorreductora con el acarreador y de otras propiedades fisicoquímicas como solubilidad, polaridad y reactividad de estos compuestos.

ACEPTORES DE ELECTRONES

En la reacción de Hill, cuando se usa el agua como donador natural de electrones, el aceptor natural o artificial de ellos es reducido por los cloroplastos iluminados, concomitantemente a la liberación de oxígeno, la cantidad de oxígeno desprendido es estequiométricamente igual a la cantidad del aceptor natural o artificial reducido, en la reacción de Hill. Así la cantidad de oxígeno desprendido es utilizado para calcular la velocidad del flujo de electrones en la fotosíntesis generalmente reportado como $\mu\text{moles } O_2 \cdot h^{-1} \text{mg}^{-1}$ de clorofila. Otra de las formas de medir estas reacciones es cuantificando los cambios de absorción del aceptor artificial o natural de electrones al pasar del estado oxidado al estado reducido. En muchos casos cuando el aceptor artificial como el metilviológeno (MV) o paraquat se reduce pasa a un estado inestable el cual es oxidado por el oxígeno del medio recobrando su estado oxidado inicial. La estequiometría de la reducción del MV por la cadena de transporte de electrones es diferente a la de la oxidación del MV reducido (MVH_2) con el oxígeno del medio: la reducción de un mol de aceptor (MV a MVH_2) produce 0.5 moles de oxígeno por dos electrones que fluyen en la cadena y la oxidación del aceptor artificial reducido (MVH_2) reacciona con 1 mol de oxígeno, en forma global se registra un decremento en la concentración de oxígeno del medio. La reducción del aceptor por el cloroplasto es dependiente de la luz, mientras que la oxidación del aceptor reducido no

De acuerdo con los potenciales redox de los acarreadores electrónicos naturales, la cadena se expande en un rango de aproximadamente $+1.0V$ del lado oxidante del PS-II hasta alrededor de $-0.6V$ del lado reductor del PSI; presentando $-0.1V$ del lado reductor del PS-II y $+0.45V$ del lado oxidante del PS-I. Desde el punto de vista termodinámico los valores de los potenciales de la cadena marcan los límites de actividad de los compuestos acepto-

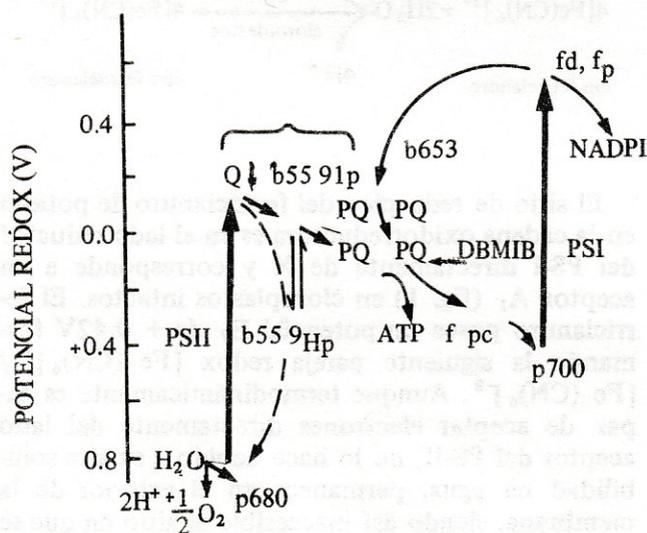


Figura 2. Diagrama "Z", disposición de la cadena conforme a los potenciales redox de los acarreadores de electrones.

inhibidores que actúen en el sitio 1 pero se inhibe con compuestos que bloqueen los sitios 2, 3, 4 y 5 (fig. 1). La reacción de Hill acíclico de agua a ferricianuro cuando acepta electrones a nivel de X está acoplada a la síntesis de ATP con una estequiometría

de 2 moles de ATP por cada $4 e^-$ transportados y se forma la mitad de ATP cuando acepta electrones a nivel de PQ o sea cuando actúa como aceptor artificial de electrones de la clase A_2 (tablas I y II).

TABLA I ACEPTORES ARTIFICIALES DE ELECTRONES TIPO A_1 O ACICLICO

NOMBRE	POTENCIAL (E_0') (en voltios)	POLARIDAD	SENSIBILIDAD A INHIBIDORES (ver fig. 1)
FERRICIANURO DE POTASIO	+ 0.42	HIDROSOLUBLE	2, 3, 4 y 5
QUINONAS ANTRAQUINONA NAFTOQUINONAS, etc.	- 0.2 a + 0.24	LIPOSOLUBLES E HIDROSOLUBLES	2, 3, 4 y 5
VIOLOGENOS o BIPIRIDILOS	- 0.342 a - 0.656	LIPOSOLUBLES E HIDROSOLUBLES	2, 3, 4 y 5
DIOXATIODIAZOHE- TERO PENTALENOS	- 0.227 a - 0.416	LIPOSOLUBLES E HIDROSOLUBLES	2, 3, 4 y 5
BENZOFUROXANO	+ 0.229	LIPOSOLUBLE	2, 3, 4 y 5

Las quinonas de bajo potencial redox como antraquinona ($E_0' \approx -0.2V$) y naftoquinonas alquiladas y/o sulfonadas de bajo y alto potencial ($E_0' = -0.22, +0.16$ y $+0.245V$) también son reducidos por el fotosistema I, en el mismo sitio en que lo hace el ferricianuro, dando la siguiente reacción:

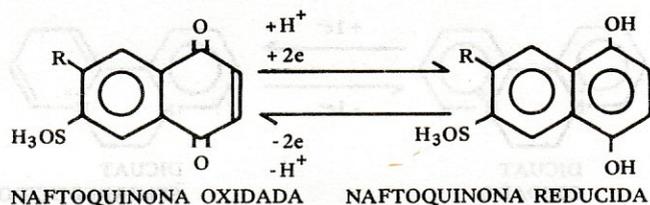
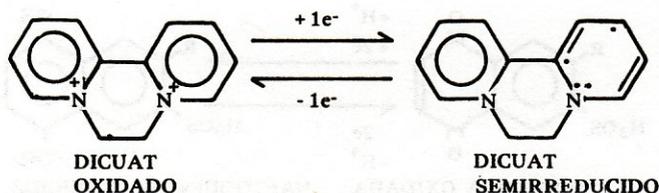
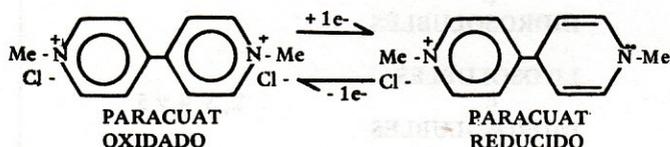


TABLA II ACEPTORES ARTIFICIALES DE ELECTRONES TIPO A_2

NOMBRE	POTENCIAL (E_0') (en voltios)	POLARIDAD	SENSIBILIDAD A INHIBIDORES (Ver fig. 1)
FERRICIANURO DE POTASIO	+ 0.42	HIDROSOLUBLE	4 y 5
PARA FENILEN- DIAMINA (PD)	+ 0.23	LIPOSOLUBLE	4 y 5
2,3,5,6 TETRA- METIL-PARA FENILENDIAMINA (DAD)	+ 0.22	LIPOSOLUBLE	4 y 5
2,6-DICLOROFE- NOLINDOFENOL DCPIP TIPO A_3	+ 0.22	LIPOSOLUBLE	4 y 5
SILICOMOLIBDA- TO DE SODIO	- 0.1	HIDROSOLUBLE	5

La quinona reducida es autooxidable transfiriendo sus electrones al oxígeno del medio de ensayo que pasa a radical superóxido el cual dismuta a H_2O_2 y O_2 ; llevando a cabo la reacción de Mehler. La reacción de las quinonas también está acoplada a la síntesis de ATP con una estequiometría de 2 moles de ATP por $4 e^-$ transportados (tabla I).

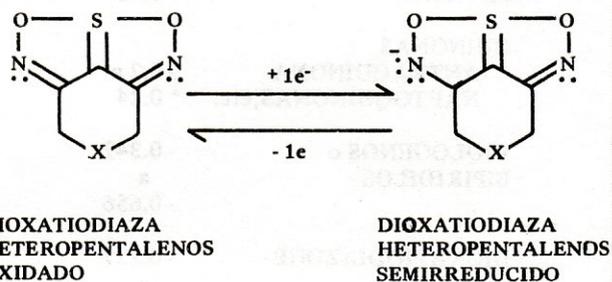
Las sales de bipyridilio, como viológenos, diquat, triquat o paraquat, se usan frecuentemente para efectuar la reacción de Mehler. Estos compuestos tienen un potencial redox que va desde $-0.342 V$ a $-0.656 V$, compitiendo por los equivalentes reductores con la ferredoxina; la reacción se puede representar así:



En estos sistemas la velocidad de captación de oxígeno y la fotofosforilación son independientes de los potenciales de los aceptores, aunque a medida en que el viológeno tiene un potencial menor, se requiere mayor concentración del compuesto para saturar el sistema. La reducción de viológenos está acoplada a la síntesis de ATP, con una estequiometría de 2 moles de ATP por $4 e^-$ transportados (tabla I).

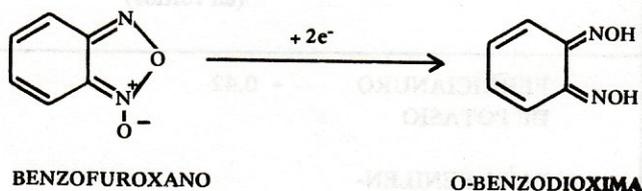
Se ha postulado que la propiedad de aceptar electrones en competencia con la ferredoxina explica la acción herbicida de dichos compuestos. Actualmente se sabe que los viológenos (o sales de bipyridilio) con actividad herbicida necesitan ser estables al pH fisiológico de la planta y que al ser reducidos se forme un catión, radical en solución, el cual es oxidado por el oxígeno del medio en la reacción de Mehler, además deben tener bajo potencial en el rango entre $-0.35 V$ y $-0.45 V$. Finalmente la molécula herbicida debe ser compacta.

Recientemente se ha encontrado que los dioxatiodiazaheteropentalenos actúan como aceptores artificiales de electrones tipo A_1 a nivel de X del fotosistema I. Los potenciales óptimos van entre $-0.227 V$ a $-0.416 V$, estos compuestos al reducirse forman radicales aniónicos en la primera fotoreducción, los cuales al reaccionar con el oxígeno del medio en la reacción de Mehler probablemente formen al radical superóxido (O_2^-) regenerando al aceptor oxidado: La reacción probable es:



Los radicales aniónicos de estos compuestos poseen propiedades herbicidas similares a las de los compuestos bipyridilios en el mismo rango de concentración y potencial redox (tabla I).

En nuestro laboratorio se ha encontrado que el benzofuroxano actúa como aceptor artificial de electrones del fotosistema I tipo A, con un potencial $E_0 = +0.229 V$, pues es sensible a los inhibidores de los sitios 2, 3, 4 y 5 (fig. 1) dando la siguiente reacción:



En este sistema la reducción del benzofuroxano es irreversible pues no hay oxidación de la ortobenzodioxima por acción del oxígeno del medio. La irreversibilidad de la reacción se confirmó por estudios de voltametría cíclica. En la voltametría cíclica, el potencial de un pequeño electrodo estacionario se hace variar linealmente con el tiempo empezando desde un potencial donde no hay alguna reacción de electrodo y moviéndolo hacia potenciales donde aparece la oxidación o reducción del material que está siendo estudiado. Después de cruzar la región del potencial donde una o más reacciones

de electrodo tiene lugar, la dirección del barrido se invierte y las reacciones de electrodo de los intermediarios y productos formados durante el barrido inicial pueden ser detectados.

En una reacción de oxidorreducción reversible la curva de reducción (voltamograma) es simétrica o casi simétrica con la de oxidación y la diferencia de potencial catódico menos el potencial anódico es de aproximadamente 56 milivoltios por cada electrón intercambiado.

En la reacción de oxidorreducción irreversible como ha sido el caso de la reacción del benzofuroxano a orto-benzoquinona se observa solo la curva de reducción, en cambio la curva de oxidación no aparece, indicando que es una reacción de oxidorreducción irreversible.

En la reducción del benzofuroxano por el cloroplasto se genera energía libre para la síntesis de ATP.

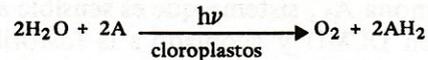
Existen otros aceptores artificiales de electrones del fotosistema I con propiedades inespecíficas como los derivados de fenolindofenol, sales de tetrazolio o rojo de metilo.

Analizando las propiedades de los aceptores de electrones A_1 se puede encontrar las siguientes características: Todos son reducidos a baja velocidad en ausencia de fosforilación, la cual es mayor en presencia de ADP y Pi o desacoplantes, con excepción del benzofuroxano. El ATP es sintetizado con una alta eficiencia ya que se obtiene un P/e_2 mayor de 1 (P/e_2 son las moles de ATP que se sintetizan en el equilibrio durante el flujo de dos electrones en la cadena oxidorreductora), lo que indica que se tienen dos zonas de generación de energía libre para la fosforilación. Una de las características que más llama la atención de estos aceptores artificiales es el amplio rango de potencial que estos presentan, que va desde + 0.42 V para el ferricianuro hasta -0.6 V aproximadamente para algunos de los viólogos, comparados con el potencial de -0.55 V del acarreador electrónico natural X que es el sitio donde son reducidos los aceptores. De acuerdo con el carácter hidrofílico e hidrofóbico de los aceptores artificiales de electrones A_1 se indica que el lado aceptor natural de electrones del fotosistema I se encuentra localizado en el lado exterior de la superficie de la membrana.

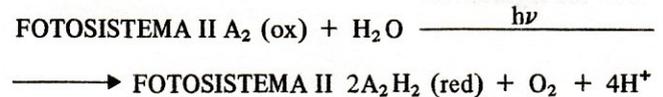
REDUCCION DE ACEPTORES DE ELECTRONES TIPO A_2 POR EL FOTOSISTEMA II (PS II).

La reacción general para los aceptores del PS-II

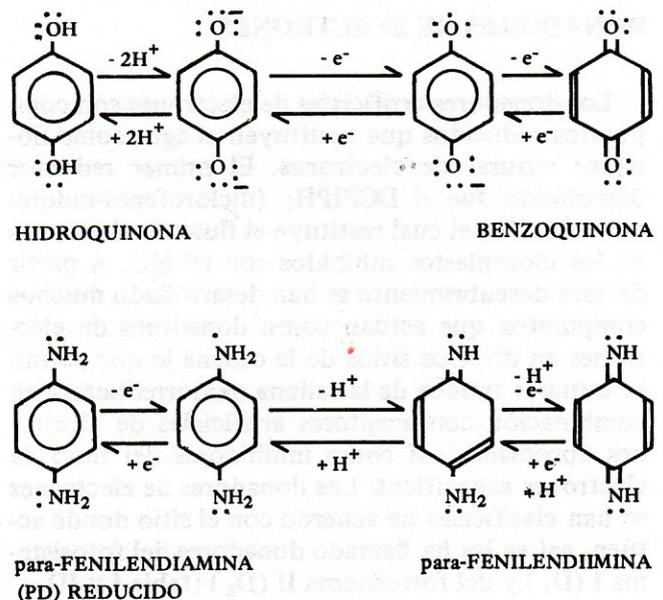
es semejante a la de los aceptores A_1 , cuando el flujo de electrones es del agua hasta X.



Sin embargo, el flujo de electrones del PS-II sólo utiliza uno de los fotosistemas, la reacción se representa así:

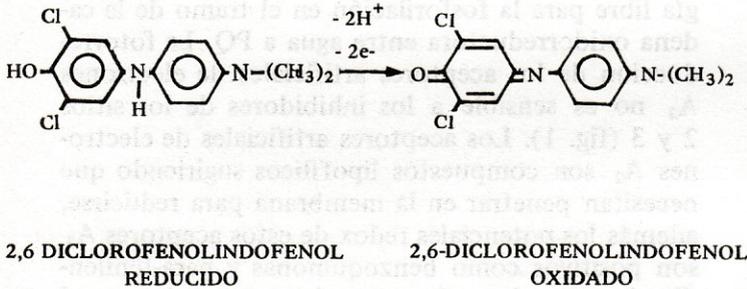
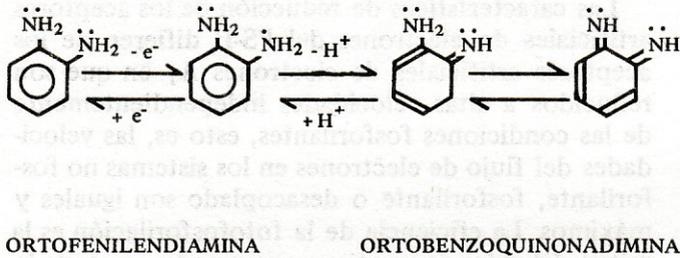


Las características de reducción de los aceptores artificiales de electrones del PS-II difieren de los aceptores artificiales de electrones A_1 en que son reducidos a altas velocidades independientemente de las condiciones fosforilantes, esto es, las velocidades del flujo de electrones en los sistemas no fosforilante, fosforilante o desacoplado son iguales y máximos. La eficiencia de la fotofosforilación es la mitad del valor que se tiene comparado con toda la cadena ya que tiene un P/e_2 de 0.5 debido a que sólo esta funcionando el PS II. Esto último sugiere que sólo se tiene un sitio de generación de energía libre para la fosforilación en el tramo de la cadena oxidorreductora entre agua a PQ. La fotorreducción de los aceptores artificiales de electrones A_2 no es sensible a los inhibidores de los sitios 2 y 3 (fig. 1). Los aceptores artificiales de electrones A_2 son compuestos lipofílicos sugiriendo que necesitan penetrar en la membrana para reducirse, además los potenciales redox de estos aceptores A_2 son positivos como benzoquinonas y para-fenilendiaminas y adecuados para formar pareja con el acarreador electrónico natural, PQ. La reacción redox sería así:



Podremos distinguir diferentes sitios de aceptación de electrones del fotosistema II, uno a nivel de la plastoquinona A_2 , sistema que es sensible a la inhibición con DCMU y acoplado a la fosforilación y otro a nivel de Q insensible al mismo inhibidor (fig. 1 y tabla II).

Las reacciones de algunos de estos compuestos son las siguientes:

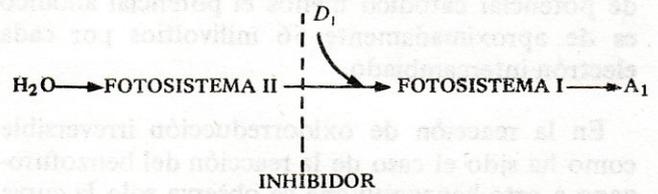


DONADORES DE ELECTRONES

Los donadores artificiales de electrones son compuestos reducidos que sustituyen al agua como donador natural de electrones. El primer reductor descubierto fue el DCPIPH₂ (diclorofenol-indofenol reducido) el cual restituye el flujo de electrones en los cloroplastos inhibidos con DCMU. A partir de este descubrimiento se han desarrollado muchos compuestos que actúan como donadores de electrones en diversos sitios de la cadena lo que permite estudiar tramos de la cadena oxidoreductora en combinación con aceptores artificiales de electrones apropiado, así como inhibidores del flujo de electrones específicos. Los donadores de electrones se han clasificado de acuerdo con el sitio donde actúan, así se les ha llamado donadores del fotosistema I (D_1) y del fotosistema II (D_2) (tabla I y II).

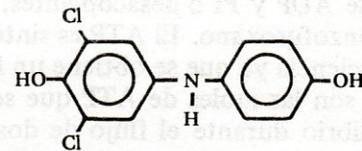
DONADORES DE ELECTRONES PARA EL FOTOSISTEMA I.

La reacción de los donadores de electrones para el PSI llamado D_1 puede representarse así:

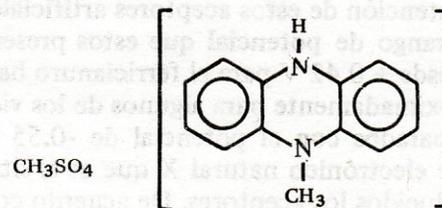


Esta reacción puede medirse indirectamente cuantificando la reducción de A_1 ya sea midiendo la especie reducida, NADPH por ejemplo o midiendo la disminución de oxígeno para cuando se utilizan aceptores reoxidables como los viológenos.

Los donadores de electrones artificiales D_1 pueden subdividirse al menos en 3 grupos, en base a la sensibilidad de los acarreadores de electrones a inhibidores específicos: las reacciones de donación de electrones insensibles a inhibidores del sitio 2 (fig. 1), en donde el donador cede a nivel de P_{700} ; como por ejemplo el 2, 6 diclorofenolindofenol reducido



o la metilsulfato de fenacina



y el 2,3,5,6 tetrametil-p-fenilen diamina reducido (DAD)

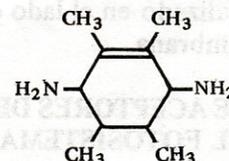


TABLA III DONADORES ARTIFICIALES DE ELECTRONES TIPO D₁

NOMBRE	POTENCIAL (E ₀ ') (en voltios)	POLARIDAD	SENSIBILIDAD A INHIBIDORES (Ver fig. 1)
2,6 DICLOROINDO-FENOL (DCPIP)	+ 0.22	LIPOSOLUBLE	1, 2
2,3,5,6 TETRAMETIL PARA-FENILENDIAMINA (DAD)	+ 0.22	LIPOSOLUBLE	1, 2
TETRAMETIL-PARA-HIDROQUINONA (DUROHIDROQUINONA, DHQ)	+ 0.06	LIPOSOLUBLE	1, 2 y 3
FENAZINA META SULFATO, PMS	+ 0.08	HIDROSOLUBLE	1 y 2 EN CIERTAS CONDICIONES SOLO 2.

Se ha reportado que el sitio de donación preferente de estos compuestos es a nivel del tramo de la cadena citocromo f/plastocianina (f/PC), aunque a muy altas concentraciones de estos donadores y con in-

hibidores que actúan a nivel de PC tienen acceso a P₇₀₀ (fig. 1). Por lo que respecta al segundo grupo de donadores artificiales de electrones (D₁) (tabla III), es en el que la reacción es sensible a inhibido-

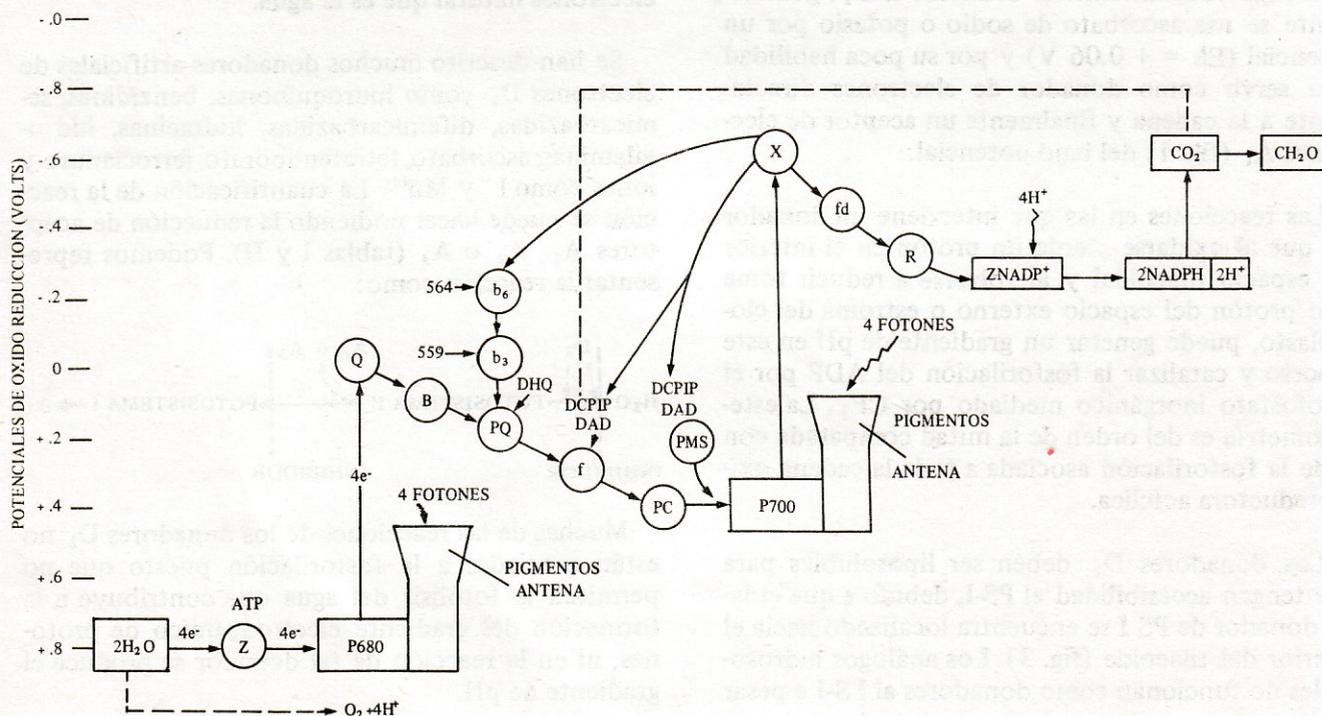


Figura 4. En este esquema se hace incapié en el transporte de electrones cíclico natural y artificial.

TABLA IV

DONADORES ARTIFICIALES DE ELECTRONES TIPO D₂

NOMBRE	POTENCIAL (E ₀) (en voltios)	POLARIDAD	SENSIBILIDAD A INHIBIDORES (Ver fig. 1)
SEMICARBACIDA	—	HIDROSOLUBLE	1,2,3 y 4
HIDRACINA	+ 1.27	HIDROSOLUBLE	1,2,3 y 4
HIDROXILAMINA	+ 1.42	HIDROSOLUBLE	1,2,3 y 4
ASCORBATO DE SODIO	+ 0.6	HIDROSOLUBLE	1,2,3 y 4
FERROCIANURO DE POTASIO	+ 0.42	HIDROSOLUBLE	1,2,3 y 4
YODURO I ⁻	- 0.535	HIDROSOLUBLE	1,2,3 y 4

res del sitio 2 de la figura 1 pero no a inhibidores del sitio 3 debido a que el donador cede a nivel de citocromo f/plastocianina. En tercer lugar tenemos reacciones sensibles a inhibidores del sitio 3, pero insensibles a inhibidores del sitio 4. El sitio de donación es a nivel de plastoquinona y solo existe reportado a la tetrametil-p-hidroquinona (durohidroquinona; E₀ + 0.06 V, DHQ, Fig. 4).

Los donadores artificiales de electrones D₁ requieren tres componentes para su reacción: un agente inhibidor que bloquee el flujo de electrones del fotosistema II; un almacén de electrones que mantenga constantemente reducido a D₁, generalmente se usa ascorbato de sodio o potasio por un potencial (E₀ = + 0.06 V) y por su poca habilidad para servir como donador de electrones directamente a la cadena y finalmente un aceptor de electrones A₁ (fig. 1) del bajo potencial.

Las reacciones en las que interviene un donador D₁ que al oxidarse pierde un protón en el interior del espacio tilacoidal y al volverse a reducir toma otro protón del espacio externo o estroma del cloroplasto, puede generar un gradiente de pH en este proceso y catalizar la fosforilación del ADP por el ortofosfato inorgánico mediado por CF₁. La estequiometría es del orden de la mitad comparada con la de la fosforilación asociada a toda la cadena oxidoreductora acíclica.

Los donadores D₁ deben ser liposolubles para que tengan accesibilidad al PS-I, debido a que el lado donador de PS I se encuentra localizado hacia el interior del tilacoide (fig. 3). Los análogos hidrosolubles no funcionan como donadores al FS-I a pesar

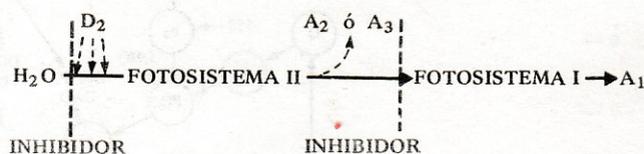
de tener un E₀ similar al compuesto liposoluble D₁ (tabla III).

DONADORES DE ELECTRONES PARA EL FOTOSISTEMA II (TABLA IV)

Los donadores de electrones para el fotosistema II (D₂ fig. 1), son compuestos que ceden electrones

a nivel de los componentes de la fotólisis del agua hasta P₆₈₀, para esto deben estudiarse en cloroplastos inhibidos con inhibidores del flujo de electrones tipo 5 (fig. 1) ya que bloquean al donador de electrones natural que es el agua.

Se han descrito muchos donadores artificiales de electrones D₂ como hidroquinonas, benzidinas, semicarbazidas, difenilcarbazidas, hidracinas, hidroxilaminas, ascorbato, tetrafenilborato, ferrocianuro y iones como I⁻ y Mn⁺⁺. La cuantificación de la reacción se puede hacer midiendo la reducción de aceptores A₁, A₂ o A₃ (tablas I y II). Podemos representar la reacción como:



Muchas de las reacciones de los donadores D₂ no están asociadas a la fosforilación puesto que no permiten la fotólisis del agua que contribuye a la formación del gradiente electroquímico de protones, ni en la reacción de tal donador se produce el gradiente de pH.

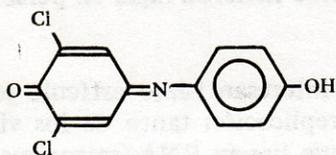
TRANSPORTE CICLICO DE ELECTRONES

Existen algunos compuestos que catalizan un transporte cíclico de electrones en el cual el compuesto reducido se oxida en algún punto de la cadena actuando como D_1 , produciéndose una especie oxidada capaz de aceptar electrones en un sitio posterior a nivel de A_1 , regenerándose el compuesto reducido inicial el cual puede iniciar de nuevo el proceso, haciendo de esta manera cíclico (fig. 4).

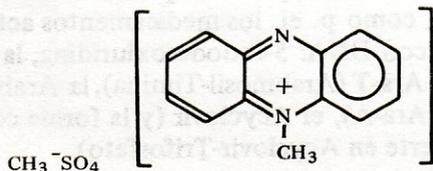
Existen muchos donadores D_1 que al oxidarse pueden funcionar como aceptores A_1 y pueden mediar el flujo de electrones cíclicos por el fotosistema I en condiciones controladas. Nótese que el transporte de electrones cíclicos es alrededor de fotosistema I (fig. 4).

El flujo de electrones cíclicos no se puede medir directamente pues se establece un equilibrio entre las especies reducidas y oxidadas del catalizador, pero en este sistema se genera la energía libre para la síntesis de ATP entonces se mide a través de este parámetro. Los compuestos como la metilsulfato de fenacina (PMS) y piocianina generan altas velocidades de fotofosforilación catalizando el transporte de electrones cíclico. Finalmente, que no se han caracterizado transportes cíclicos de electrones alrededor del fotosistema II o de toda la cadena satisfactoriamente.

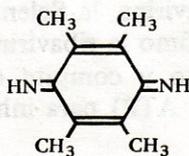
Como por ejemplo el 2,6 diclorofenolindofenol oxidado (DCIP) es acarreador cíclico de electrones.



o el metil sulfato de fenacina (PMS) oxidado



y el 2,3,5,6 tetrametil-p-fenilen diamina oxidado (DAD)

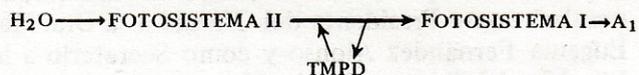


Se ha reportado que el sitio de donación preferente de estos compuestos es a nivel del tramo de la cadena citocromo f/plastocianina (f/PC, fig. 4), aunque a muy altas concentraciones de estos donadores y con inhibidores que actúan a nivel de PC (fig. 1) tienen acceso a P_{700} . Por lo que el segundo grupo de donadores artificiales de electrones (D_1), es en el que la reacción es sensible a inhibidores del sitio 2 (fig. 2) pero no a inhibidores del sitio 3, en donde el donador cede a nivel de citocromo f/plastocianina (fig. 4).

Las reacciones de oxidorreducción que efectúan estos donadores son iguales a las descritas arriba, como cuando donan a nivel de P_{700} , f/PC o PQ.

TRANSPORTE DE ELECTRONES PUENTE

Otro tipo de compuestos artificiales que puede aceptar electrones en algún punto de la cadena oxidorreductora para cederlas nuevamente a algún acarreador electrónico natural subsiguiente de la cadena, desviando el flujo de electrones son los formadores de puente artificial. El TMPD es un compuesto descrito como puente. Las reacciones se representan así:



TRANSPORTADOR DE ELECTRONES PUENTE

BIBLIOGRAFIA

1. Hauska, G. (1977). Artificial Acceptors and Donors. En Encyclopedia of Plant Physiology. Editores: Trebst, A. y Arnon, M. Photosynthesis. Springer-Verlag Berlin. Vol. 5, p. 253.
2. Trebst, A. (1972). Measurement of Hill Reaction and Photoreduction. En Methods in Enzymol. Editores San Pietro, A. Academic Press, New York, Vol. XXIV. p. 146.
3. Saha S., Ouitrakul, R., Izawa, S. y Good, N.E. (1971). Electron transport and photophosphorylation in chloroplasts as a function of the Electron Acceptor. J. Biol. Chem. 246, (10), p. 3204.
4. Hauska, G., Trebst, A. y Draber, W. (1973). Lipophilicity and catalysis of photophosphorylation. Biochem. Biophys. Acta 305, p. 632.
5. Giaquinta, R.T. y Dilley, R.A. (1975). A partial reaction in photosystem II: Reaction of silicomolybdate prior to the site of Dichlorophenyldimethylure inhibition. Biochim. Biophys. Acta 387, p. 288.

CIRCULO DE INVESTIGACION EN EDUCACION MEDICA

ACTA CONSTITUTIVA

En México Distrito Federal siendo las 9:00 horas del día 20 del mes de marzo del año 1986, reunidos en sesión plenaria en la sala de juntas de la Secretaría de Planeación y Servicios Escolares de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México, los miembros fundadores del Círculo de Investigación en Educación Médica acordaron constituirse como un grupo autónomo de trabajo para promover la superación académica mediante el estudio, desarrollo y divulgación de aspectos metodológicos e investigaciones pedagógicas en el área de ciencias de la salud.

Con el propósito de normar sus actividades, el grupo aprobó las bases Generales de Organización que se anexan a la presente, y de acuerdo con el inciso 3.2 del capítulo 3 del mismo documento, se nombró como Presidente del Círculo a la Dra. Ma. Eugenia Fernández Alonso y como Secretario a la Lic. Ma. del Carmen Osorio Alvarez, para el primer ciclo de sesiones, en el lapso comprendido del 1o. de julio de 1986 al 30 de junio de 1987.

Para los efectos pertinentes se levanta la presente acta por triplicado, la cual firman de conformidad los miembros fundadores del círculo.

Dr. Guillermo Alvarez Llera, Lic. Silvia Baum Wollstein, Dra. Ma. Eugenia Fernández Alonso, Dra. Julieta García Medrano, Dr. Alejandro Mercado Coria, Lic. Carmen Osorio Alvarez, Dra. Ileana Petra Micu, Dr. Bernardo Pintos Aguilar, Dr. Joaquín Reyes Tellez, Dra. Yolanda Saldaña de Delgado.

Robins, R.K. Synthetic antiviral agents., Special report., Chem & Eng. News., 64: (4) 28-40 (1986) Enero 27.

Los agentes químicos antivirales están asentados en una nueva era de la medicina moderna, que pue-

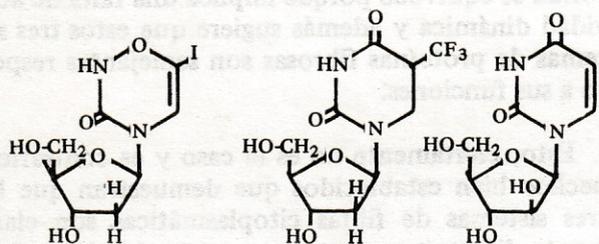
de compararse con la que vió el desarrollo de antibióticos para el tratamiento de las infecciones bacterianas.

Las enfermedades virales bien definidas incluyen el resfriado común, la influenza, la bronquitis, la hepatitis, el herpes, la poliomieltis, las gastroenteritis, la rabia, así como varias de las enfermedades comunes de la infancia tales como la varicela, el sarampión y las paperas. Además, a los virus se les ha involucrado en otras enfermedades, desde la artritis reumatoide, la diabetes mellitus, la esclerosis múltiple y el cáncer cervico-uterino hasta la enfermedad cardíaca congénita, la aterosclerosis y muchas otras enfermedades degenerativas y crónicas. El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) también es causado por un virus. En el pasado han ocurrido epidemias por virus que causaron muchas muertes y podrían suceder otra vez. El ejemplo espectacular más reciente fue la influenza epidémica de 1918-1919 que ocasionó 500 millones de casos y 20 millones de muertes en todo el mundo. La influenza persiste como una gran amenaza de enfermedad y muerte en nuestro mundo, siendo más seria conforme la edad promedio aumenta. En los brotes recientes de influenza, del 85 al 90% de los fallecimientos tuvieron lugar en personas de más de 65 años.

En este interesantísimo artículo se describen la forma de replicación tanto de los virus con DNA como los que tienen RNA (retrovirus). Así mismo, pueden apreciarse las diferentes moléculas de los compuestos antivirales que se emplean actualmente en medicina, como p. ej. los medicamentos activos contra virus con DNA: 5-Iododesoxiuridina, la Trifluridina, la Ara-T (Arabinosil-Timina), la Arabinosil-Adenina (Ara-A), el Acyclovir (y la forma como éste se convierte en Acyclovir-Trifosfato).

Hay ocho análogos de la guanosina y de la adenosina que inhiben a los virus con DNA y a los que tienen RNA. Entre estos se encuentran la 3-desazaguanosina, la Rivavirina, la Selenazofurina, etc. Se explica también cómo la ribavirina se convierte en ribavirina-trifosfato y compete con los substratos naturales (GTP y ATP) para inhibir la replicación de los virus.

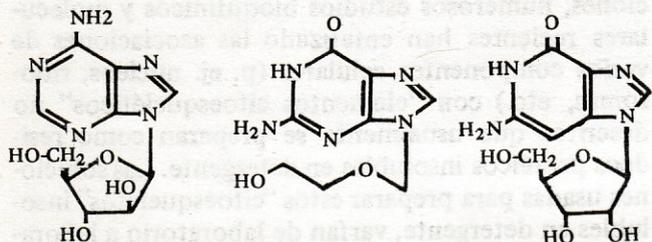
En la parte final se discuten los prometedores nuevos agentes: Foscarnet (fofonofornato), la Amantadina y Rimantadina (activas contra el virus de la influenza A) y la 3'-Azidotimidina que actúa contra los retrovirus y en estudios preliminares actúa contra el virus del SIDA: *Science.*, 231: (4745) 1504-1505 (1986) Marzo 28; Yarchoan, R. *et. al.*, *Lancet.*, I, 575 (1986)).



Idoxuridina

Trifluridina

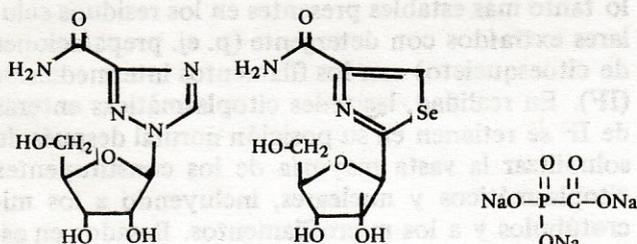
Ara-T



Ara A

Acyclovir

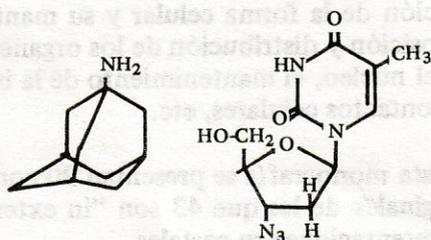
3-Desazaguanosina



Ribavirina

Selenazofurina

Foscarnet



Amantadina

Azido-Timidina

Monnier, Y.M., Vishwanath, V., Frank, K.E., Elemeets, C.A., Dauchot, P. y Kohn, R.R., Relation between complications of Type I diabetes mellitus and collagen-linked fluorescence., *New Engl. J. Med.*, 314 (7) 403-408 (1986) Feb. 13.

Las proteínas glicosiladas no-enzimáticamente forman gradualmente aductos de proteínas fluorescentes con los enlaces cruzados —un proceso denominado “oscurecimiento” (browning)—. La velocidad de esta reacción aumenta con la concentración de glucosa. Por lo tanto, la determinación de la presencia de producto de “oscurecimiento” en las proteínas de vida-larga debería de dar información del control metabólico a largo plazo.

Los autores determinan la fluorescencia ligada a la colágena, típica para el “oscurecimiento” no-enzimático, en especímenes de biopsias de piel de 41 enfermos con diabetes de Tipo I de larga duración y de 25 testigos. La fluorescencia se correlacionó con la edad y (débilmente) con la duración de la diabetes. Los valores de fluorescencia ajustados por la edad promedio, fueron dos veces más altos en los sujetos diabéticos que en los testigos ($P < 0.0001$) y aumentó con la severidad de la retinopatía, la nefropatía y el endurecimiento arterial y articular. La correlación fue significativa para la retinopatía ($r = 0.42$; $P < 0.01$); endurecimiento arterial ($r = 0.41$; $P < 0.01$); endurecimiento de las articulaciones ($r = 0.34$; $P < 0.05$) y la suma de todas las complicaciones ($r = 0.47$; $P < 0.01$). La fluorescencia también se correlacionó con las presiones sistólica ($r = 0.42$; $P < 0.01$) y diastólica ($r = 0.36$; $P < 0.05$). Si podemos suponer que la fluorescencia resulta de un producto de “oscurecimiento” de la glucosa, nuestros datos sugieren que hay una correlación total entre la severidad de las complicaciones de la diabetes y la hiperglicemia acumulativa de muchos años.

Dr. Guillermo Carvajal S.
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
Instituto Politécnico Nacional

Veronese, F. di M., Copeland, T.D., Divico, A.L. Rahman, R., Oroszlan, S., Gallo, R.C. y Sarngadharan, M.G. Characterization of highly immunogenic p66/p51 as the reverse transcriptase of HTLV-III/LAV., *SCIENCE.*, 231: (4743) 1289-1291 (1986) Marzo 14.

Dr. Guillermo Carvajal S.
Depto. de Bioquímica. ENCB. IPN.

Aproximadamente el 80% de todos los sueros humanos que reaccionan con antígenos del HTLV-

III, el agente etiológico del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), reconocen bandas de proteínas de 66 y 51 kilodaltones. Se produjo un hibridoma de ratón que fue específico para estas proteínas. La clonación repetida del hibridoma no separó las dos reactividades. La p66/p51 se purificó de lisados del HTLV-III por cromatografía de inmunoafinidad y se sujetó a degradación de Edmán (partiendo del extremo amino libre terminal). Se obtuvieron residuos de aminoácidos individuales en 17 ciclos sucesivos de degradación. La secuencia determinada fue una traducción perfecta de la secuencia nucleotídica de una porción del gene *pol* del HTLV-III.

La p66/p51 tuvo actividad de transcriptasa inversa y la inmunoglobulina G monoclonal, específicamente suprimió la actividad enzimática del extracto viral crudo así como la de la enzima purificada.

Dr. Guillermo Carvajal S.
Depto. de Bioquímica. ENCB. IPN.

Wang, E., Fishman, D., Liem, R.K.H. y T.-T. Sun., Eds., *Intermediate Filaments.*, Ann. New York Acad. Sci., 455: (1985) 832 pp. Oct. 31

Los filamentos intermediarios (IF) con los microtúbulos y los microfilamentos constituyen los tres principales sistemas de proteínas fibrosas que se han encontrado por estudios de microscopía electrónica, bioquímicos e inmunológicos, en una gran variedad de tipos celulares. Los IF tienen un diámetro de 8-10 nm y se les llama así porque tienen un tamaño intermedio entre los microfilamentos (que aproximadamente son de 6nm, tipo actina) y los microtúbulos (≥ 15 nm, tipo miosina). Además de las subunidades proteicas que constituyen la columna vertebral o el corazón de estas fibras citoplásmicas (p. ej. la tubulina en los microtúbulos) hay numerosas "proteínas asociadas" que parecen formar complejos con sus paredes. Estas proteínas asociadas se cree están involucradas en varias funciones, que incluyen la formación de enlaces cruzados y la regulación de la polimerización. Se pueden encontrar en la literatura numerosos ejemplos de estas proteínas asociadas que incluyen a mucha de la actina o proteínas asociadas a los microfilamentos tales como la tropomiosina, la α -actinina, la filamina, etc. y las proteínas asociadas a los microtúbulos (MAPs) que han sido descritas ampliamente. Recientemente se han descrito proteínas asociadas a los IF (IFAPs) y la actividad en esta área de estudio

indudablemente aumentará en intensidad en el futuro cercano.

Cuando se consideran juntos, estos tres sistemas de fibras y sus proteínas asociadas constituyen una gran proporción de las proteínas totales de la célula que en conjunto se les conoce como el citoesqueleto o el sistema citoesquelético. Desafortunadamente el término "citoesqueleto" cuando se usa en esta forma es equívoco porque implica una falta de actividad dinámica y además sugiere que estos tres sistemas de proteínas fibrosas son semejantes respecto a sus funciones.

Esto, ciertamente no es el caso y es contrario a hechos bien establecidos que demuestran que los tres sistemas de fibras citoplásmicas son claramente diferentes respecto a su organización subcelular, su relación con diferentes funciones celulares, sus estabildades relativas y sus propiedades bioquímicas e inmunológicas. A pesar de estas consideraciones, numerosos estudios bioquímicos y moleculares recientes han enfatizado las asociaciones de varios componentes celulares (p. ej. núcleos, ribosomas, etc.) con "elementos citoesqueléticos" no descritos que usualmente se preparan como residuos protéicos insolubles en detergente. Las soluciones usadas para preparar estos "citoesqueletos" insolubles en detergente, varían de laboratorio a laboratorio, especialmente en lo que se refiere a parámetros tales como pH y fuerza iónica. En la mayoría de los casos, los componentes más insolubles y por lo tanto más estables presentes en los residuos celulares extraídos con detergente (p. ej. preparaciones de citoesqueleto) son los filamentos intermediarios (IF). En realidad, las redes citoplásmicas enteras de IF se retienen en su posición normal después de solubilizar la vasta mayoría de los constituyentes citoplásmicos y nucleares, incluyendo a los microtúbulos y a los microfilamentos. Basados en estas y en otras propiedades bioquímicas y biofísicas parecería que los IF son los candidatos más probables para involucrarlos en las funciones de verdadero citoesqueleto. Tales funciones podrían incluir la producción de la forma celular y su mantenimiento, la posición y distribución de los organelos incluyendo el núcleo, el mantenimiento de la integridad de los contactos celulares, etc.

En esta monografía se presentan 90 contribuciones originales de las que 43 son "in extenso" y el resto presentaciones en carteles.

Incluyen trabajos sobre la "vimentina", la "desmina", la "keratina", el "neurocitoesqueleto" y los "filamentos intermediarios en patología".

Puede complementar o substituir como un artículo de divulgación comprensivo sobre el tema: "The Intermediate Filament Proteins", de N.F. Cooper., *Biochem. E.*, 13: (4) 154-159 (1985) octubre.

Dr. Guillermo Carvajal S.
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
Instituto Politécnico Nacional.

Anorexia Nerviosa y Zinc. En: Bruce-Smith, D. John Jeyes Lecture: Environmental Chemical Influences of Behaviour and Mentation, Chem. Soc. Revs., 15: 93-123 (1986).

Esta "enfermedad de los delgados" afecta gravemente a aproximadamente 10 000 pacientes en el Reino Unido, en su mayoría muchachas. Convencionalmente se ve como de origen psicosocial o sexual "todo en la mente", "imagen corporal defectuosa", "valores de clase media". Aun el alimento se ve con simbolismo sexual en siquiatría; pero el tratamiento psiquiátrico basado en estas teorías es notoriamente ineficaz y el padecimiento algunas veces es fatal. En contraste, hemos desarrollado un tratamiento eficaz basado en el conocimiento de que aunque la *anorexia nerviosa* puede involucrar contribuciones de ciertos factores sociales, el factor predominante es usualmente químico: deficiencia de zinc.

No dudamos que la reducción inicial en el consumo de alimento resulte principalmente de factores sociales tales como la asociación dominante de la delgadez con el atractivo sexual. Sin embargo se alcanza un punto en que el ayuno, como otros "stresses", paradójicamente provoca pérdida aumentada de zinc en la orina exacerbando así los efectos del consumo disminuido. Conforme el zinc declina, la alteración de los sentidos dependientes del zinc, el gusto y el olfato, puede esperarse reduzcan más el deseo de alimento. La depresión mental, un conocido síntoma de la deficiencia de zinc, hace que una situación mala empeore. Nosotros pensamos que el círculo vicioso se rompería, dando zinc extra. La otra inevitable deficiencia dietética, normalmente se remediaría automáticamente tan pronto como los pacientes empezaran a comer normalmente y su depresión mental se abatiera. Este nuevo enfoque ha resultado muy gratificante en manos de mis colaboradores médicos: R. I. D. Simpson y D. Latto. La *anorexia nerviosa* junto con otros varios estados mentales, depresivos, compulsivos o neuróticos, ahora parecen ser fácilmente curables proporcionando 15 a 150 mg. de Zn/día (66 a 660 mg. de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) en la mayoría de los casos en los que se diagnostica la deficiencia de zinc mediante la "prueba del sabor" (reacción al gusto de una solución al 0.1% de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$). Si la solución sabe insípida puede esperarse una respuesta positiva a la administración del zinc. La mejoría es aparente en días o a veces en horas aún en pacientes en que la enfermedad ha sido de larga duración.

Dr. Guillermo Carvajal Sandoval
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
Instituto Politécnico Nacional

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DEL BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA

El BEB es una revista dedicada a la divulgación de temas interesantes y relevantes en el campo de la bioquímica y en áreas afines. Está dirigido a profesores y estudiantes no especializados, por lo que se sugiere que la presentación de los trabajos se ajuste a sus lectores y sea simple explícita y didáctica. Serán bienvenidas las contribuciones en forma de artículos de revisión y otras comunicaciones. Solicitamos a los autores se ajusten a los siguientes lineamientos para facilitar la labor editorial.

I. ARTICULOS DE REVISION

- 1) El manuscrito no debe exceder de 12 cuartillas escritas a máquina a doble espacio (27 renglones por cuartilla y 70 golpes por renglón.)
- 2) Se aceptarán como máximo 6 figuras o tablas. La limitación en el número de figuras, tablas y referencias obliga a los autores a que seleccionen aquellas realmente importantes e informativas. Numere las figuras con números arábigos y las tablas con números romanos. Adicione las leyendas y pies de figuras en una hoja aparte. Considere que las figuras y tablas serán reducidas de tamaño, aproximadamente a 1/2 o 1/4 de la hoja carta, las letras o números más pequeños, una vez hecha la reducción no deben ser menores a los 2 mm.
- 3) Sugerimos un máximo de 10 referencias tanto específicas como lecturas recomendadas. Cada referencia debe contener: nombre(s) del autor(es), año entre paréntesis, título del artículo, nombre de la revista, volumen a cursiva y el número de la primera y última páginas. Ejemplos:

- a) Miller, C.O. (1982). Cytokinin Modification of Mitochondrial Function. *Plant Physiol*, 69, 1274-1277.
- b) Larkins, B.A., Pearlmutter, N.L. y Hurkman, W.J. (1979). The mechanism of zein synthesis

and deposition in protein bodies of maize endosperm. En *The Plant Seed. Development, Preservation, and Germination*, Editores: Rubenstein, I., Phillips. R.L., Green, C.E. y Gengenbach, B.G. Academic Press. New York. pp. 49-55.

- 4) Evite hasta donde sea posible los pies de páginas. Las abreviaturas poco comunes utilizadas en el texto deberán, enlistarse en la primera página.

II. OTRAS COMUNICACIONES

- 1) El tema de las otras comunicaciones puede ser muy variado; desde resúmenes de artículos interesantes, relevantes o significativos, información de tipo general, bolsa de trabajo, etc.
- 2) El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de una manera muy explícita.
- 3) El manuscrito debe ser de una o cuatro cuartillas de longitud, escritas en máquina a doble espacio (27 renglones por cuartilla y 70 golpes por línea).
- 4) Se aceptarán un máximo de dos referencias incluidas entre paréntesis en el texto. En casos en que se juzgue necesario se podrá incluir una figura o tabla.

Los manuscritos serán leídos por dos revisores, uno de ellos familiarizado con el tema y el otro ajeno al mismo. Las correcciones y sugerencias se comunicarán al primer autor.

Envíe el original y dos copias de los manuscritos a la Dra. Yolanda Saldaña de Delgadillo. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Apdo. Postal 70-159, Delegación Coyoacán, 04510 México, D.F., o al Dr. Alberto Hamabata, Departamento de Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Apdo. Postal 14-740, 07000 México, D.F. o bien a través del corresponsal BEB.