



BEB 86

BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA

VOLUMEN V

No. 3

SEPTIEMBRE 1986

EDITORIAL

HACIA UNA PLURALIDAD EN LA CIENCIA

En el mundo contemporáneo, el concepto de progreso está directamente asociado con el establecimiento y desarrollo de una civilización industrial, misma que se apoya fundamentalmente en la ciencia y sus aplicaciones en forma de tecnología. Tanto la civilización industrial como la ciencia moderna son fenómenos netamente occidentales, cuyos orígenes se encuentran estrechamente ligados con el pensamiento filosófico derivado del protestantismo en su versión puritano-calvinista, así como también, con el modelo capitalista-productivista de desarrollo económico.

Las revoluciones sociales burguesas de fines del siglo XVIII (sustentadas en el pensamiento racional-positivista) y la revolución industrial ocurrida en Gran Bretaña durante la primera mitad del siglo XIX (sustentada a su vez en la aplicación del conocimiento científico a la solución de problemas prácticos), condujeron a la entronización del modelo industrial como único camino aparente hacia el progreso social. Durante la segunda mitad del siglo XIX, la ciencia experimental llega a su madurez, convirtiéndose en punta de lanza en el proceso de secularización social y entronizándose como primordial camino para lograr un conocimiento verdadero y legítimo. Al mismo tiempo, se genera una filosofía de la ciencia basada en ideas positivistas, la cual atribuye a la ciencia un carácter objetivo, neutral, unitario y universal.

Inherente al establecimiento de la sociedad industrial, es la aparición de un orden jerárquico internacional. Los países con temprano desarrollo industrial y científico, pasan a constituir el centro de un nuevo sistema de poder económico y político mundial. La supuesta naturaleza objetiva y neutral de la ciencia, la convierte en sutil herramienta para lograr la propagación y legitimación de ese particular concepto de civilización y organización mundial.

Durante los últimos cuarenta años, los llamados países sub-desarrollados (o en vías de desarrollo) que constituyen la periferia del orden mundial, han iniciado un acelerado, heterogéneo y caótico proceso de industrialización en un afán de superar las desigualdades y carencias presentes en el seno de sus sociedades. Gobiernos y autoridades de los más avanzados países tercermundistas, parecen estar advertidos de la importancia de la ciencia como cimiento para el modelo industrial de desarrollo; de esta manera, promueven la educación científica y la formación de cuadros de especialistas, muchos de los cuales adquieren dicha formación en los países desarrollados. Lo anterior está conduciendo a una homogeneización de la cultura mundial; sin embargo, debido a que el flujo de información tiende a ocurrir del centro hacia la periferia, el resultado neto es el establecimiento de un solo modelo cultural originado en los países de Europa Occidental (bajo definidas condiciones históricas, sociales y económicas) y que actualmente tiene sus puntas de lanza en los dos polos neo-imperiales: E.U. y la U.R.S.S.

La concepción positivista de la ciencia, misma que le atribuye un carácter unitario desde el punto de vista metodológico y teórico, ha generado un particular modo de enseñar y

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 de la Facultad de Medicina UNAM

DR. PABLO MORENO SILVA
Secretario General de la Facultad de Medicina UNAM

C.P. EDUARDO MUÑOZ GONZALEZ
Secretario Administrativo

INDICE

BEB 84 Vol. III. Núm. 3 septiembre de 1986

EDITORIAL

Hacia una pluralidad en la ciencia
Armando Aranda Anzaldo 65

ARTICULOS

Características de los receptores Benzodiazepínicos y la trascendencia de su estudio
Dalila Martínez de Muñoz 68

Mediadores celulares y bioquímicos en la cirrosis hepática experimental. Juan Socorro Armendariz Borunda 73

Pautas para la elaboración de un protocolo de investigación educativa. Silvia Baum Wollenstein, Guillermo Alvarez Llera y Yolanda Saldaña Delgadillo 78

Nueva Perspectiva en el mecanismo de acción de la insulina: el receptor de la Insulina. Edgar Zenteno, Sergio Pérez de Lara y Alonso de la Peña 87

INDICE DE REVISTAS 89

Instrucciones para los colaboradores del Boletín de Educación Bioquímica 96



CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA,

DR. HECTOR MAYAGOITIA DOMINGUEZ
Director General

DR. JESUS GUZMAN GARCIA
Director Adjunto de Desarrollo Científico

DONATIVO PCSACNA-451019

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.

practicar la ciencia; el cual se manifiesta en la definición de horizontes y prioridades científicas que estrictamente corresponden a las necesidades e inquietudes presentes en los países desarrollados. A consecuencia de lo anterior, los individuos tercermundistas con preparación de carácter científico, suelen tomar alguno de estos tres caminos:

- 1) Emigrar hacia los países del centro con el fin de poder desarrollar una carrera significativa en el marco de los aceptados paradigmas científicos.*
- 2) Hacer investigación científica en instituciones locales (tercermundistas), investigación que generalmente se ubica en la periferia de los paradigmas científicos y usualmente representa la repetición bajo condiciones locales de experimentos o proyectos ya realizados en los países desarrollados.*
- 3) Dedicarse a la implementación de tecnologías para la solución de problemas locales, lo cual generalmente representa la adaptación de modelos tecnológicos previamente desarrollados en los países industrializados.*

Las tres opciones anteriormente indicadas, contribuyen en forma consciente o inconsciente a perpetuar la dependencia cultural, científica y tecnológica de la periferia con respecto a los países del centro. Las opciones 2 y 3 (las más comunes), particularmente exacerban esta dependencia, debido a que su práctica requiere de la importación de equipos y materiales sofisticados que solamente son producidos en el primer mundo.

Las falta de conciencia histórica y social, característica de la mayoría de los científicos, los hace particularmente vulnerables a ser utilizados en forma consciente o inconsciente, como vectores para la penetración y establecimiento de un solo modelo de civilización y jerarquía mundial. Lo anterior es reforzado por el enfoque positivista de la ciencia, el cual es instalado en la mayoría de los textos científicos y propaga la idea de que sólo existe una manera de aproximarse al conocimiento científico. Esto tiende a generar una pasividad y timidez intelectual en la mayoría de los científicos tercermundistas, los cuales en lugar de generar nuevas teorías y métodos que ensanchen el panorama de la ciencia y de esta ma-

nera fomentar el intercambio igualitario de información y conocimiento entre las naciones, se contentan con explorar pequeños y trillados problemas (o acertijos) que en poco o nada contribuyen hacia el avance del conocimiento, de sus sociedades o de la igualdad entre las naciones.

Así mismo, políticos e instituciones del tercer mundo contribuyen a la temprana alienación de sus inmaduras comunidades científicas, al confundir la ciencia con un mero instrumento para la solución de problemas de naturaleza práctica e inmediata, mismos que podrían ser solucionados en forma más adecuada y eficiente, por ingenieros o profesionales de las áreas médico-biológicas, sin tener que desviar y malgastar los escasos recursos materiales y humanos de sus incipientes comunidades científicas.

Obviamente que la solución no radica en el aislamiento intelectual, en la quema de los textos de la ciencia moderna para substituirlos por los productos de una ciencia folklórica, por el contrario, es necesario continuar fomentando la salida de nuestros científicos en formación (o ya formados) al extranjero, la participación de los mismos en congresos y reuniones científicas de carácter internacional, pues indudablemente, los países industrializados cuentan con gran experiencia en el quehacer científico. Sin embargo, es necesario cambiar la actitud con la que nos aproximamos a la enseñanza y práctica de la ciencia; sería un avance el que dejáramos de aprender exclusivamente a través de la memoria y la repetición, debemos dejar de ser practicantes a través de la mera imitación, para convertirnos, por medio de un proceso dialéctico, en críticos y creadores.

La ciencia pos-newtoniana ha producido una gran cantidad de resultados positivos susceptibles de ser utilizados o ensanchados por cualquiera que sea capaz de articularlos. La historia de la ciencia nos permite hacer conciencia de que hoy al igual que ayer, existen enormes cantidades de conocimientos físicos y biológicos, desconocidos, llenos de misterio y en espera de ser descubiertos.

Armando Aranda Anzaldo Department of Biochemistry, University of Cambridge, England. Instituto de Fisiología Celular, UNAM y Depto. de Bioquímica de Medicina, UNAM, México

CARACTERÍSTICAS DE LOS RECEPTORES BENZODIAZEPINICOS Y LA TRASCENDENCIA DE SU ESTUDIO

Dalila Martínez de Muñoz. Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN. Apartado Postal 14-740 México, D.F. 07000.

LOS RECEPTORES A BENZODIAZEPINAS, SU ACCION ANSIOLITICA, ANTIRRELAJANTE, ANTICONVULSIVA E HIPNOTICA.

Los ansiolíticos o tranquilizantes son fármacos de uso común debido a que la ansiedad es un estado desagradable que se sufre cotidianamente. El hombre de nuestro tiempo vive agitado, apresurado, preocupado y temeroso de su presente y de su porvenir. Los fármacos conocidos como tranquilizantes se utilizan cada vez con mayor frecuencia para combatir estos estados desagradables. De entre ellos, las benzodiazepinas (BZ) destacan por su utilización frecuente y su abuso. Estos compuestos son muy eficaces también como hipnóticos y como relajantes musculares. También son efectivos como anticonvulsionantes, se utilizan en el tratamiento de algunos tipos de epilepsia y se recomiendan específicamente en el *Status Epilepticus*, que se caracteriza por la repetición de ataques epilépticos. Por lo tanto, su estudio es muy interesante y recientemente se ha dedicado un esfuerzo considerable para entender el mecanismo molecular de su acción, cuyo conocimiento haría su utilización terapéutica más racional y menos desmedida.

Antecedentes Históricos

Las primeras benzodiazepinas fueron sintetizadas en 1935 por Dziewonski y Sternbach. En 1960 el clordiazepóxido (comunemente conocido como librium) se introdujo a la clínica y fue rápidamente seguido por el diazepam (valium) (1962) y por el flurazepam (delmane) en 1970. Desde el inicio, la eficacia de estos medicamentos causó un incremento muy rápido de su consumo de tal manera que en E.U.A. en 1977, las benzodiazepinas constituyeron el 50% de los hipnóticos prescritos. Una estimación conservadora de las benzodiazepinas consumidas en ese país durante ese año, se calcularon en 8 000 toneladas. En 1970 se declara al diazepam droga de preferencia para el tratamiento del *status epilepticus* y a partir de entonces se sintetizan análogos más potentes como nitrazepam y flunitrazepam (1).

En 1977 Möehler caracteriza los receptores a BZ en membranas neurales de corteza cerebral y a partir de entonces se sintetizan cientos de análogos a diazepam con características de agonistas, antagonistas y agonistas parciales. Desde esa época se ha incrementado el interés por conocer el mecanismo molecular de estas drogas (2).

Características Farmacológicas

Las BZ que poseen actividad anticonvulsivante son muy similares químicamente (fig. 1), pero tienen algunas diferencias que modifican su estabilidad, su efectividad y su toxicidad. Las relaciones

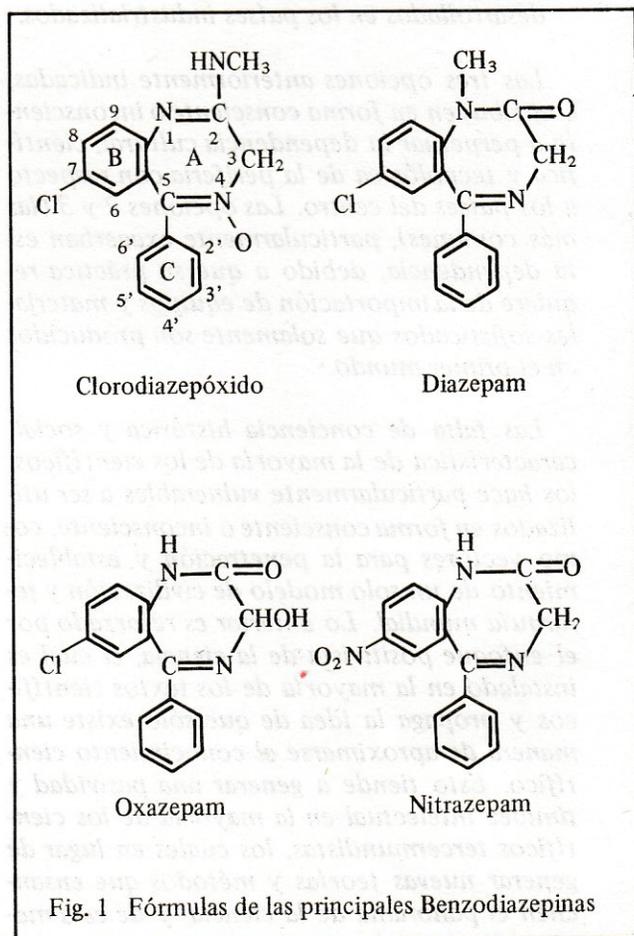


Fig. 1 Fórmulas de las principales Benzodiazepinas

entre estructura y actividad anticonvulsiva se resumen en la tabla I. Las BZ se absorben rápidamente por el tubo digestivo, se metabolizan en el hígado en donde se desmetilan e hidroxilan y se eliminan por el riñón y las heces. Se distribuyen en los tejidos y se acumulan en aquellos con alto contenido en lípidos tales como el cerebro y el tejido adiposo. El

TABLA I

RELACION ENTRE LA ESTRUCTURA QUIMICA Y EL PODER ANTIEPILEPTICO

- 1.- Las sustituciones en la primera fórmula de la figura 1 por un grupo electronegativo (Cl, NO₂) en el carbono 7 (C₇) del anillo A, son importantes para la actividad antiepiléptica. Si el sustituyente es un Cl⁻ (como en diazepam), el espectro de su poder antiepiléptico es más amplio, y si es un NO₂ (como en nitrazepam) se potencia su poder anticonvulsionante contra (PTZ) en animales de experimentación.
- 2.- Un sustituyente fenilo en C₅ aumenta la potencia antiepiléptica de los compuestos sustituidos en C₇.
- 3.- Los derivados que poseen un hidróxilo en C₃ son menos tóxicos, posiblemente porque se conjugan con facilidad y se eliminan como glucurónidos.
- 4.- La adición de un Cl en posición orto del anillo C a un derivado NO₂ en posición C₇ incrementa de 5 a 10 veces su potencia anticonvulsionante. Esto sucede en el caso de clonazepam, que es más potente que el diazepam.

diazepam administrado por vía intravenosa alcanza concentraciones óptimas en el cerebro pocos minutos después, coincidiendo con la modificación del electroencefalograma (EEG) de los individuos que presentan *status epilepticus*.

Se ha descrito dependencia física y frecuentemente síntomas de abstinencia cuando se suspende bruscamente la administración crónica de BZ, sobre todo a dosis altas.

No se han descrito efectos tóxicos que alteren el sistema hematopoyético, hepático o renal, pero los efectos laterales son comunes. Los que más frecuentemente se presentan son somnolencia y vértigo, sobre todo con nitrazepam, En los niños tratados con este compuesto algunas veces se presentan ataxia e hipotonía.

La utilización más frecuente de las BZ es como ansiolíticos, relajantes e hipnóticos. Estos compuestos no se utilizan en el tratamiento crónico de los epilépticos, excepto el nitrazepam, que se prescribe para las mioclonías y para las crisis acinéticas y el diazepam para el *status epilepticus*. Generalmente las BZ se administran junto con otros antiepilépticos en el establecimiento de la terapia y se suspenden paulatinamente al lograr el control de las crisis.

Efectos Fisiológicos de las benzodiazepinas

Para entender la acción de las BZ sobre el sistema nervioso, se han examinado los efectos de estos compuestos en los sistemas de neurotransmisión conocidos. Se ha encontrado que la administración sistemática de las BZ afecta las concentraciones de la mayoría de los neurotransmisores (norepinefrina, dopamina, serotonina, acetilcolina, glicina y ácido γ -aminobutírico, GABA).

Por aplicación iontoforética de BZ en células identificadas, se ha demostrado que al menos parte de sus acciones resultan de la interacción con el neurotransmisor inhibitorio GABA. En la tabla II se resumen los efectos fisiológicos de estos compuestos (3).

TABLA II

EFFECTOS FISIOLÓGICOS DE LAS BENZODIAZEPINAS SOBRE EL SISTEMA GABAérgico

- 1.- Potenciación de la inhibición presináptica en médula espinal (GABA) pero no afecta la inhibición postsináptica (Glicina)
- 2.- Potenciación de la inhibición pre y postsináptica del núcleo cuneato (GABA).
- 3.- Facilitación de la inhibición postsináptica de corteza cerebral, sustancia nigra, hipocampo y células de Purkinje del cerebelo.
- 4.- La aplicación iontoforética de GABA en corteza cerebral, células de rafeé, células de Purkinje, médula espinal, etc. sinergizan a las BZ.
- 5.- Los efectos de BZ en sistemas GABAérgicos son bloqueados específicamente por antagonistas a GABA (picrotoxina, bicuculina).
- 6.- La inhibición de la síntesis de GABA suprime el efecto facilitatorio de BZ sobre el sistema GABAérgico.

Conclusión.- Las BZ modulan los eventos sinápticos mediados por GABA. Específicamente potencian la inhibición del SNC mediada por GABA.

Por lo tanto, los datos electrofisiológicos apoyan la hipótesis de que las BZ actúan modulando el sistema inhibitorio GABAérgico (3) y que además, a dosis elevadas, potencian los efectos GABAérgicos (4). Se han publicado también resultados que indican que las BZ aumentan la permeabilidad de Cl⁻ y modifican los canales de Ca⁺⁺ (5).

Efectos Neuroquímicos

El mecanismo molecular por el cual las BZ actúan sobre el SNC, aún se desconoce, pero se piensa que estos fármacos pueden afectar uno o más de

los neurotransmisores putativos. Así, se han descrito algunos efectos sobre el sistema catecolaminérgico, caracterizados por la disminución del impulso nervioso en las células dopaminérgicas y noradrenérgicas. Las BZ disminuyen el recambio de la dopamina y norepinefrina cerebral y durante el *estrés* impiden el aumento de norepinefrina. Otros autores han descrito alteraciones del sistema serotoninérgico, pues las BZ disminuyen el recambio de este neurotransmisor en el SNC. Estos efectos podrían estar relacionados con las propiedades ansiolíticas de estos compuestos.

También se han descrito alteraciones del sistema colinérgico y el de la glicina. La idea de que las BZ pueden actuar en el SNC a través del sistema GABAérgico no es nuevo, pero ha tenido auge y las numerosas investigaciones realizadas la apoyan cada vez más (6).

La acción de las BZ sobre el sistema GABAérgico puede ser:

- A. Al mimetizar la acción del GABA sobre su receptor.
- B. Por aumento de la liberación del GABA presináptico al espacio intersináptico.

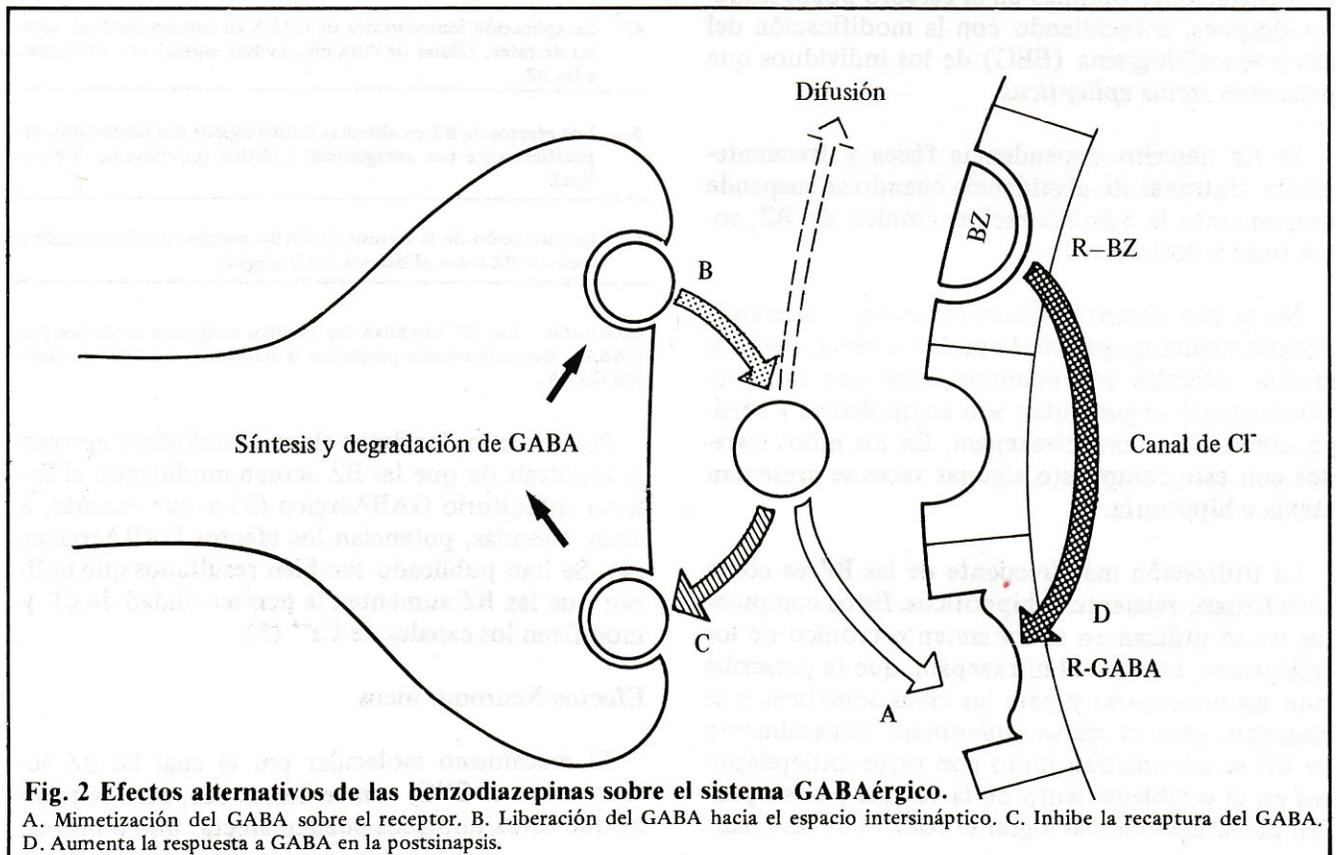
- C. Al inhibir la recaptura del GABA del espacio intersináptico.
- D. Por alteración de la respuesta a GABA en la postsinapsis.

Estas alternativas se esquematizan en la figura 2.

Puesto que las BZ no mimetizan exactamente la acción del GABA, se descarta la primera posibilidad. Debido a que la potenciación GABAérgica de las benzodiazepinas no está correlacionada con aumento del contenido de GABA en la presinapsis, se elimina el segundo mecanismo. Tampoco hay evidencia de que estos fármacos bloqueen la recaptura de GABA del espacio intersináptico. Por lo tanto, es probable que las BZ actúen sobre los receptores postsinápticos del GABA, como se discute posteriormente.

Receptores Benzodiazepínicos.

Desde que Möhler en 1977 describió los receptores específicos a benzodiazepinas en el cerebro de rata, se han realizado numerosos estudios para caracterizarlos, tanto en animales de experimentación como en humanos. Con el uso de ligandos radiactivos, para el caso con [³H]-diazepam o [³H]-flunitrazepam, se ha determinado por el método de



unión (binding) la formación del complejo ligando-receptor. Este método que es fácil de realizar, ha permitido detectar en el SNC receptores a BZ (R-BZ) y se ha determinado que la formación del complejo ligando-receptor es reversible, específica a la estructura bicíclica del ligando, saturable y que los agonistas y antagonistas a la BZ desplazan al ligando radiactivo del complejo ligando receptor. Las principales características de los R-BZ determinadas por este método se resumen en la tabla III. Actualmente se acepta la heterogeneidad de los R-BZ que de acuerdo a su distribución en el sistema nervioso, se clasifican en centrales y periféricos, los centrales además tienen gran afinidad para clonazepam y poca para el antagonista benzodiazepínico Ro 15-4588, en tanto que para los receptores periféricos la afinidad es inversa. A su vez los R-BZ centrales se subdividen en tipos I y II cuyas características principales se resumen en la tabla IV.

Para explicar la existencia de los subtipos I y II de R-BZ centrales existen dos teorías: a) Que se trate de los mismos receptores con sitios estructurales distintos de reconocimiento para los ligandos que tengan mayor afinidad para ciertas BZ y menos para otras (7). b) Que cada tipo de receptor corres-

ponda a estructuras moleculares diferentes y una alternativa más es c) Que los subtipos de R-BZ representen diferentes conformaciones de una misma clase de receptores, dependiendo de su estado de acoplamiento con el ligando o de la estructura membranal que los rodea. La hipótesis de que el R-BZ forma parte del multirreceptor formado por el R-GABA, el ionóforo de Cl^- y el sitio de reconocimiento a picrotoxina/barbituratos, apoya la posibilidad de influencias o cambios alostéricos en los estados conformacionales de estos receptores (c).

Respecto a la relación entre BZ y R-GABA, está bien probada la facilitación GABAérgica inducida por estos fármacos que ocurre en la postsinapsis, en donde el R-GABA está acoplado al ionóforo de Cl^- . Por esto se ha sugerido que las BZ modulan la transmisión GABAérgica, regulando la disponibilidad de GABA para unirse a su receptor. Recientemente, se ha demostrado que las características cinéticas del reconocimiento de GABA por su receptor pueden ser modificadas de la misma manera que el R-BZ por agonistas y en forma opuesta por los antagonistas (β -carbolinas), lo que explicaría la acción facilitatoria e inhibitoria de la transmisión GABAérgica por agonistas y antagonistas a las BZ respectivamente.

TABLA III
CARACTERISTICAS DE LOS RECEPTORES A BENZODIAZEPINAS

- 1.- Localización: neuronal, primordialmente en las membranas sinaptosomales aunque se han detectado también en células gliales.
- 2.- Distribución: corteza cerebral (frontal, parietal y temporal), hipocampo, bulbo olfatorio, células de Purkinje y capa molecular de cerebelo.
- 3.- Filogenia y ontogenia aparecen en los tetrápodos en tanto que los de GABA se encuentran desde los cordados. Su ontogenia es un poco distinta a los R-GABA pues estos últimos aparecen unos días antes en el desarrollo del SNC.
- 4.- Son específicos para compuestos bicíclicos del tipo BZ con acciones agonistas y antagonistas, neurotransmisores, drogas excitadoras y otros compuestos neuroactivos que no tienen esa estructura, no los reconocen.
- 5.- Acción farmacológica. Hay una correlación entre la potencia farmacológica de las BZ y su capacidad para desplazar a [3H]-flunitrazepam del complejo ligando-receptor.
- 6.- Heterogeneidad. Los R-BZ son heterogéneos: su distribución en el SN, su unión a fármacos (agonistas y antagonistas) la mediación de GABA y la asociación o no a otros receptores como los de GABA, prueban que hay varios tipos y subtipos de receptores. Los receptores centrales presentes en el SNC tienen gran afinidad para clonazepam, en tanto que los periféricos que se encuentran en riñón, pulmón e hígado presentan mayor afinidad por el fármaco Ro 15-4588. Los centrales se subdividen en tipos I y II (tabla IV).
- 7.- Ligandos endógenos. Las purinas: inosina e hipoxantina, la nicotinamida y las β -carbolinas, presentes en el organismo, se unen al R-BZ.
- 8.- Inhibidores endógenos. Se ha purificado un péptido endógeno que modula la unión de las BZ a su R inhibiéndola.
- 9.- Modulación por GABA. Este neurotransmisor y algunos agonistas aumentan la unión de BZ a su receptor. En bulbo olfatorio se ha determinado la aparición de R-BZ marcados con [3H]-flunitrazepam inducidos por GABA, que no existen en su ausencia.

TABLA IV

SUBTIPOS DE RECEPTORES CENTRALES A BENZODIAZEPINAS

	R ₁	R ₁₁
Localización	Cerebelo, lámina IV de corteza, sustancia negra.	Caudado-putamen giro dentado hipocampo, corteza.
Agonista	CL-218872 (trizolopiridazina)	No
Antagonista	Carbolinas	No
Función	Ansiolítica	Anticonvulsiva
Modulación	GABA	No determinado
Peso molecular de la fracción proteínica (KD)	P ₅₁	P ₅₁ , P ₅₃ , P ₅₅ , P ₅₉

Ligandos endógenos

Una clase de ligandos las benzodiazepinas, alivian la ansiedad, antagonizan las convulsiones, producen relajación muscular y facilitan la transmisión inhibitoria. Otra clase de ligandos, los ésteres de la β -carbolina, producen ansiedad, facilitan las convulsiones e inhiben la transmisión GABAérgica. La tercera clase, incluye ligandos farmacológicamente inertes como las imidazolbenzodiazepinas y las pirazoloquinolinonas, las cuales no tienen acción sobre el sistema GABAérgico. Una explicación para esta serie de efectos es que cuando los sitios de reconocimiento de las BZ están ocupados, producen una transición alostérica de los sitios de reconocimiento del GABA facilitando o estorbando las interacciones entre el GABA presente en el espacio intersináptico y el R-GABA unido a un transductor específico. Cuando se forma el complejo R-BZ, se expresa a través de una modificación de los R-GABA, por lo tanto los sitios receptores o de reconocimiento de las BZ no están unidos directamente al transductor. Esto significa que las BZ actuarían como *cotransmisores*.

Relacionada al concepto que las R-BZ no están directamente conectadas al transductor, pero acoplados al transductor del complejo: GABA/ionóforo de Cl⁻, se requiere saber cual es la función de las BZ y si existe un *efector endógeno* para estos receptores. Si este efector existiera podría modificar la transmisión GABAérgica, pero no producir una acción

por sí mismo y por lo tanto, sería inactivo en ausencia de GABA (8).

Existen tres opciones para la existencia de un ligando endógeno:

- a) Que efectúe una acción como las BZ (como ansiolítico, relajante y anticonvulsivo) y amplifique la función GABAérgica.
- b) Que actúe como las β -carbolinas y cause ansiedad, facilite las convulsiones y restrinja el efecto inhibitorio del GABA.
- c) Que ambos tipos de efectores esten presentes y operen a través del sistema GABAérgico en forma coordinada.

En la intensa búsqueda de un ligando endógeno, se han descrito las purinas; hipoxantina e inosina y la nicotinamida que se encuentran en el SNC, pero de las cuales se requieren altas concentraciones para producir efectos similares a BZ, como ansiolíticos y anticonvulsivos. Además estos compuestos se unen con baja afinidad a las R-BZ. Por el contrario las β -carbolinas presentes en la orina y en el SNC, presentan gran afinidad por las R-BZ y su acción es antagónica al del diazepam. Además proveniente del SNC se ha purificado un péptido con peso molecular de 11 KD que se une al BZ-R y tienen también una función antagónica al diazepam y por ello se le denomina inhibidor de la unión de diazepam (DBI). Este factor por sí mismo no altera la unión de GABA a su receptor, pero inhibe el efecto de las BZ sobre el aumento de esta unión (9).

Repercusiones clínicas, aplicaciones y conclusiones

En los últimos años se ha demostrado que muchos fármacos neuroactivos funcionan a través de sustancias neurohumorales ya sea para mimetizar, antagonizar o aumentar sus efectos. Por esto no sorprende que para conocer el mecanismo de acción de las BZ se haya pensado en buscar un sistema de neurotransmisión responsable de sus efectos. La existencia, caracterización y purificación parcial de R-BZ específicos, en áreas del SNC relacionadas funcionalmente con su acción farmacológica, sugieren que las BZ deben de unirse a estos receptores para ejercer su efecto (10).

Entre las aplicaciones más útiles que han surgido, para la farmacología es el *cernimiento* de fármacos en experimentación, con probable acción como anticonvulsivos, ansiolíticos o relajantes, ya que por el método de formación del complejo li-

gando-receptor (binding), se pueden evaluar esos compuestos fácilmente. Por este método se ha comprobado que la capacidad anticonvulsiva de las BZ es inversamente proporcional a la concentración que se requiere para desplazar el 50% del diazepam radiactivo, acoplado al R en condiciones óptimas (CI₅₀) (2).

Una aplicación clínica importante es que con este método se pueden cuantificar las BZ presentes en los líquidos biológicos, como la sangre (10). Algunas veces es necesaria esta determinación para establecer la terapia adecuada y evitar dosis terapéuticas insuficientes o efectos tóxicos.

Para el porvenir, la caracterización y el mejor conocimiento de los subtipos de R-BZ permitirá la identificación de áreas, vías anatómicas, núcleos o células responsables de cada una de las acciones farmacológicas de las BZ. El descubrimiento de alguno o algunos ligandos endógenos que llenen todos los requisitos, constituirá un gran avance de la neurobiología pues permitirá la mejor comprensión de las alteraciones patológicas relacionadas con la ansiedad y los procesos convulsivos y en consecuencia de su modificación. Para lograr todo esto se requiere continuar el estudio farmacológico de las BZ, pero conjuntando a neurobiólogos de varias disciplinas.

REFERENCIAS

- Martínez de Muñoz, D. (1986). Modo de acción de algunos antiepilepticos. En *Epilepsia: Un enfoque multidisciplinario*, Editores: Feria, V. A., Martínez de Muñoz, D. y Rubio, D. F. Editorial Trillas. México. pp. 140-167.
- Möehler, H. y Richards, J. G. (1981). Agonist and antagonist benzodiazepine receptor interaction *in vitro*. *Nature (London)*. 294, 763-765.
- Braestrup, C. y Nielsen, M. (1984). Benzodiazepine receptors. En *Handbook of Psychopharmacology Vol. 17. Biochemical studies of CNS receptors*. Editores: Iversen, L. L., Iversen, S.D. y Snyder, S. H. Plenum Press. New York y Londres. pp. 285-383.
- Costa, E. y Guidotti, A. (1979). Molecular mechanisms in the receptor action of benzodiazepines. *Life Sci.* 17, 167-186.
- Fujimoto, M., Tsukinori, Y. y Okabayashi, T. (1982). Comparison of the effects of GABA and chloride ion on the affinities of ligands for the benzodiazepine receptor. *Life Sci.* 30, 51-57.
- Olsen, R. A. (1981). Convulsant and anticonvulsant drug binding sites related to GABA-regulated chloride ions channels. En *GABA y Benzodiazepine Receptors*. Editores: Costa, E., Dichiaro, G. y Gessa, G. L. Raven Press. New York. pp. 93-102.
- Sieghart, W., Drexler, G., Mayer, A. y Schuster, A. (1983). Interaction of benzodiazepine agonist and antagonist with different benzodiazepine receptors in benzodiazepine recognition site ligands, biochemistry and pharmacology. Editores: Biggio, G. y Costa, E. Raven Press. New York. pp. 11-19.
- Marangos, P. J., Clark, R., Martino, A. M., Paul, S. M. y Skolnick, P. (1979). Demonstration of two new endogenous "benzodiazepine like" compounds from brain. *Psychiatry Res.* 1, 121-130.
- Paul, S. M., Marangos, P., Brownstein, M. y Skolnick, P. (1981). Demonstration and characterization of an endogenous inhibitor of GABA-enhanced [³H]diazepam binding from bovine cerebral cortex in: *GABA and Benzodiazepine Receptors*. Editores: Costa, E., Dichiaro, G. y Gessa, G. L. Raven Press. New York. pp. 103-110.
- Tallman, J. F., Paul, S. M., Skolnick, P. y Galleger, D. N. (1980). Receptor for the age of anxiety: pharmacology of the benzodiazepines. *Science.* 207, 274-280.

MEDIADORES CELULARES Y BIOQUIMICOS EN LA CIRROSIS HEPATICA EXPERIMENTAL

Juan Socorro Armendariz Borunda. Departamento de Investigación. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Chihuahua. Apartado Postal 1090 Chihuahua, Chih., México.

La cirrosis hepática es la complicación de la mayoría de los padecimientos inflamatorios que afectan

al hígado en forma difusa. Esta alteración se caracteriza por la acumulación excesiva de células fi-

broblásticas y por el aumento de la síntesis y depósito de proteínas de la matriz extracelular, tales como la colágena, además se presenta necrosis celular generalizada y aparición de nódulos de hepatocitos regenerantes rodeados por gruesas bandas de tejido conectivo. Los estudios a nivel bioquímico han demostrado que se encuentra aumentada la poza de prolina, así como también las actividades de varias enzimas muy importantes en la biosíntesis de la colágena hepática.

Todas estas alteraciones metabólicas junto con otro conjunto de cambios no bien definidos, traen como consecuencia el aumento en la síntesis de colágena y por ende el desarrollo del proceso cicatrizal conocido con el nombre de fibrosis. Se ha demostrado (1) que en este evento, el contenido total de colágena aumenta de cinco a siete veces por arriba del encontrado en el hígado normal y este incremento se manifiesta en todos los tipos de cirrosis estudiados hasta ahora independientemente del agente etiológico.

Cada molécula de colágena esta compuesta por tres cadenas alfa con una masa aproximada de 100 000 daltons cada una. Así tenemos por ejemplo que: la colágena tipo I esta formada por dos cadenas alfa idénticas (I) y una cadena genética-

mente distinta α_2 , por eso la fórmula condensada es: $[\alpha_1 (I)]_2 \alpha_2$. La colágena tipo III está formada por tres cadenas alfa idénticas entre sí pero distintas a las anteriores, por lo tanto, su fórmula condensada es $[\alpha_1 (III)]_3$. Las colágenas IV y V también son diferentes en cuanto a la composición de sus cadenas. La Tabla I nos muestra los diferentes tipos de colágena presentes en condiciones normales en la matriz extracelular del hígado.

NATURALEZA DE LA CICATRIZ

A pesar de que hay una gran variedad de agentes capaces de producir el daño hepático (alcohol, virus de la hepatitis, tetracloruro de carbono (CCl₄), parásitos como *Schistosoma mansoni*, etc.), de todos los casos estudiados en humanos hasta ahora, la naturaleza de la cicatriz finalmente formada en el hígado tiene semejanzas. Estos hallazgos sugieren que independientemente del camino o ruta que utilicen los distintos agentes causales, existe como un común denominador a todos ellos, una vía final común que participa en la producción de la cicatriz (1).

Por otro lado, se ha encontrado que la cicatriz formada en el hígado de rata es similar con la ante-

TABLA I. TIPOS GENETICOS DE COLAGENAS DE TEJIDO CONJUNTIVO HEPATICO NORMAL^a

TIPO DE COLAGENA	FORMULA	LOCALIZACION HEPATICA	DISTRIBUCION EN OTROS TEJIDOS
I	$[\alpha_1 (I)]_2 \alpha_2$	Haces gruesos de colágena en las tríadas portales. Cápsulas de Glisson. Forma un anillo delgado alrededor de la vena terminal. Forma el tejido conjuntivo denso del hígado.	Practicamente Ubiqua
Trímero-I	Formado por 3 cadenas α_1 idénticas $[\alpha_1 (I)]_3$	Está presente en muy pequeña cantidad y no se conoce su distribución en el tejido hepático.	Piel, cartílago, hígado y encia
III	$[\alpha_1 (III)]_3$	Corresponde a algunas de la fibras reticulares hepáticas. Asociada con fibronectina y forma el tejido conjuntivo laxo del hígado. Se encuentra en las tríadas portales, alrededor de la vena terminal y en el parénquima.	Codistribuida en todos los tejidos junto con la tipo I, excepto tendón y hueso. Predomina en tejidos jóvenes o embrionarios y disminuye con la edad y durante el proceso de maduración de las heridas.
IV	Compuesta por: $\alpha_1 (IV)$ y $\alpha_2 (IV)$ o C y D respectivamente. Su composición estequiométrica no se conoce.	Alrededor de células de músculo liso, en vasos sanguíneos, conductos y conductos biliares axones nerviosos, arterias y linfáticos. En el parénquima se localiza entre el endotelio y las placas de hepatocitos.	Presente en todas las membranas basales.
V	Compuesta por 3 cadenas α distintas $\alpha_1 (V)$ ó αB ó B $\alpha_2 (V)$ ó αA ó A $\alpha_3 (V)$ ó αC ó C No se conoce la estequiometría	Se encuentra en la mayor parte de tejidos conjuntivos. Tiene una localización vascular y se considera como la colágena del exoesqueleto.	Presente en el espacio portal y en venas terminales. En la región del parénquima tiene una localización parecida a la colágena tipo IV.

a Modificada de la Referencia 2.

Nota: La colágena tipo II no se encuentra en el hígado y su composición es: $[\alpha_1 (II)]_3$

riormente descrita, en tanto que la cirrosis hepática experimental provocada por la administración ininterrumpida de CCl_4 (daño hepático crónico), está asociado con el aumento progresivo de la cantidad de colágena por unidad de peso de tejido y el incremento es también del orden de cinco a siete veces con respecto a valores normales (2).

Todos los estudios anteriores relacionados con la patogenia de la cicatriz han demostrado que el aumento en el contenido de la colágena se debe a un incremento global de todos los tipos genéticos de esta proteína, pero con predominio en la síntesis de la colágena de tipo I. Se ha encontrado también que la relación entre las colágenas I y III (I/III) se encuentra alterada (1).

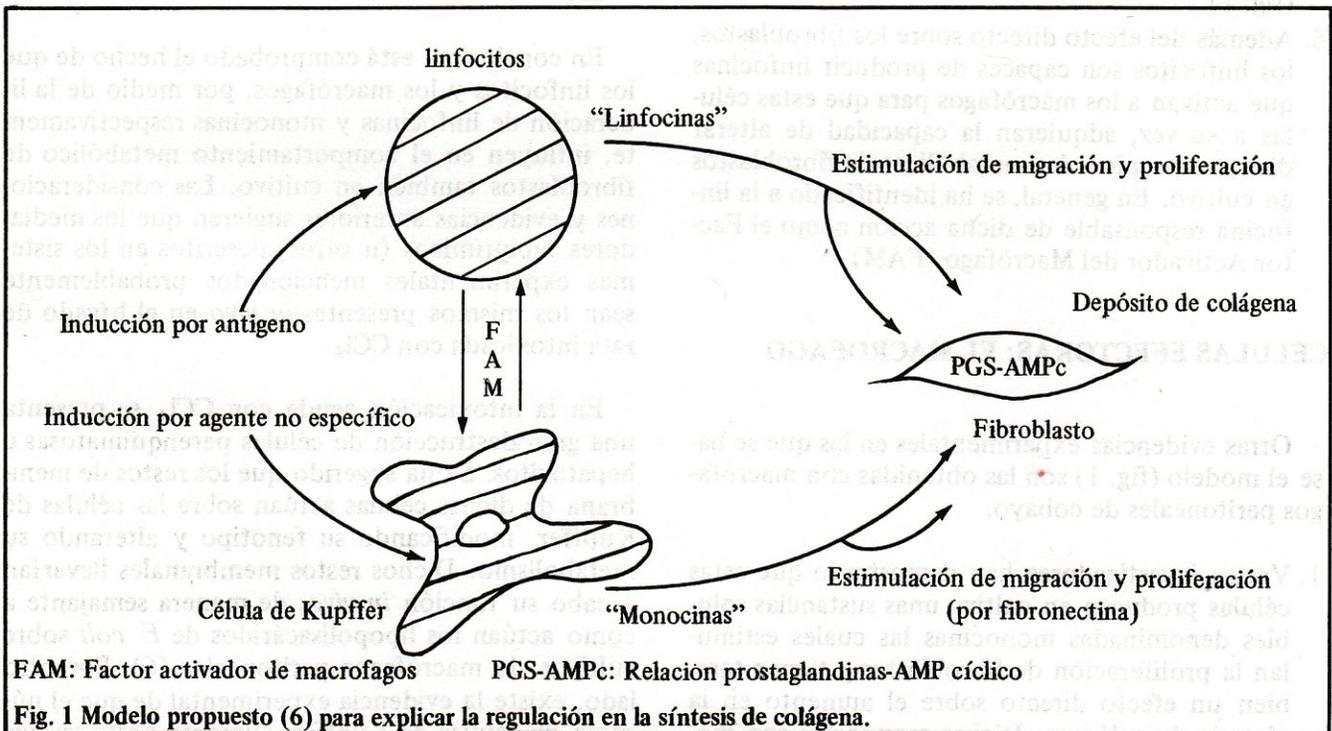
CELULAS RESPONSABLES

Se piensa que todos los casos de alteración en la síntesis y degradación del tejido conjuntivo son un reflejo de la actividad de las células presentes en mayor número en ese estadio patológico. A pesar de que se ha demostrado que diferentes células como los hepatocitos y las células endoteliales pueden producir distintos tipos de colágena en cultivo (3, 4) se ha sugerido que la célula que sintetiza la mayor cantidad de colágena *in vivo* es el fibroblasto, toda vez, que se ha demostrado que las células fibroblásticas en cultivo producen colágena en mayor cantidad en comparación con las demás células hepáticas.

INTERRELACIONES CELULARES

Todo proceso cicatrizal es precedido por una inflamación. Así, la presencia e interacción de células linfoides y fibroblastos presentes en dicho sitio inflamatorio ha intrigado a los investigadores durante mucho tiempo. A ese respecto, en los últimos años ha adquirido una enorme importancia el hecho de poder dilucidar si tanto los linfocitos como los macrófagos, e incluso otras células de la economía distintas de las del sistema linfoide como son los hepatocitos, pudieran influir en las funciones metabólicas del fibroblasto.

Esas interacciones celulares entre el sistema linfoide y los fibroblastos han sido estudiadas *in vitro* en procesos inflamatorios de la piel, así como en el modelo de la esquistosomiasis murina (5) y aunque la mayoría de la información ha sido obtenida con macrófagos peritoneales y linfocitos circulantes, se ha pensado que muy probablemente esté sucediendo lo mismo con células de Kupffer (macrófagos hepáticos) dentro del hígado dañado. La presencia de un mecanismo común involucrado en la formación de la cicatriz, sugiere que las mismas interrelaciones observadas entre las células inflamatorias de las heridas ocurren en el hígado durante la fibrogénesis activa (6). Se ha propuesto un modelo que analiza las interconexiones entre linfocitos, células de Kupffer y fibroblastos, el cual trata de explicar como se lleva a cabo el evento final de la regulación de la síntesis de colágena (fig. 1) (6).



Dicho modelo se sustenta básicamente en las siguientes evidencias experimentales:

1. Se ha encontrado que los linfocitos y también los macrófagos hepáticos (células de Kupffer) presentes en los granulomas formados alrededor de las tríadas portales en los hígados de ratones infectados con el parásito *Schistosoma mansoni*, tienen un papel importante en la formación de la fibrosis hepática.
2. Dichos granulomas aislados y cultivados secretan factores o mediadores que pueden estimular la proliferación fibroblástica y la síntesis de la colágena *in vitro*.
3. En los medios de cultivo sin suero de dichos granulomas hepáticos existe una sustancia capaz de ejercer una actividad estimuladora de la migración direccional de fibroblastos de piel *in vitro*. Se ha sugerido que este último efecto puede tener un importante significado *in vivo* con lo cual coadyuvaría al aumento en el número de células fibroblásticas en el sitio de la lesión inflamatoria.
4. Por otro lado, se ha determinado con linfocitos circulantes estimulados *in vitro* con fitoheмоaglutinina y con otros antígenos producen unas sustancias llamadas linfocinas, las cuales estimulan la síntesis de colágena y proteínas no colagénicas por fibroblastos en cultivo (7). Dichas linfocinas son moléculas solubles, generalmente de carácter proteínico que mediante diversos mecanismos regulan el metabolismo tanto de fibroblastos como de las células de Kupffer (fig. 1).
5. Además del efecto directo sobre los fibroblastos, los linfocitos son capaces de producir linfocinas que activan a los macrófagos para que estas células a su vez, adquieran la capacidad de alterar distintas propiedades metabólicas de fibroblastos en cultivo. En general, se ha identificado a la linfocina responsable de dicha acción como el Factor Activador del Macrófago (FAM).

CELULAS EFECTORAS: EL MACROFAGO

Otras evidencias experimentales en las que se base el modelo (fig. 1) son las obtenidas con macrófagos peritoneales de cobayo.

1. Varios investigadores han demostrado que estas células producen en cultivo unas sustancias solubles denominadas monocinas las cuales estimulan la proliferación de fibroblastos y tienen también un efecto directo sobre el aumento en la síntesis de colágena. Dichas monocinas son mo-

léculas proteínicas moderadamente sensibles al calor, diferentes de las linfocinas.

2. Se demostró además, que es necesario un proceso previo de "activación *in vitro*" con agentes mitogénicos como lipopolisacárido bacteriano, para que el macrófago pueda elaborar los mediadores solubles, uno de los cuales ya está caracterizado y se le llamó Factor Activador de Fibroblastos derivados de Macrófagos (M-FAF) (6).
3. Dichos mediadores solubles o monocinas estimulan además la producción de prostaglandinas por el fibroblasto y así pueden controlar el depósito neto de la colágena tisular por medio de la variación en la velocidad de síntesis de la colágena y también modulando la producción de colagenasa (8).
4. Los macrófagos peritoneales y células de Kupffer activadas en cultivo producen mayor cantidad de fibronectina que las células normales. Dicha proteína es un factor quimiotáctico para los fibroblastos de piel tanto humana como de cobayo.
5. Por otro lado, el factor estimulador de la proliferación fibroblástica no ha sido completamente caracterizado, sin embargo se sabe que es una proteína no dializable y con un peso molecular de 40 000-60 000 daltons (6), y aunque este factor tiene un efecto sobre los fibroblastos semejante al de factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento derivado de plaquetas y factor de crecimiento fibroblástico, se puede diferenciar de éstos últimos con base en su tamaño molecular.

En conclusión, está comprobado el hecho de que los linfocitos y los macrófagos, por medio de la liberación de linfocinas y monocinas respectivamente, influyen en el comportamiento metabólico de fibroblastos también en cultivo. Las consideraciones y evidencias anteriores sugieren que los mediadores bioquímicos (u otros) descritos en los sistemas experimentales mencionados probablemente sean los mismos presentes *in vivo* en el hígado de rata intoxicada con CCl_4 .

En la intoxicación aguda con CCl_4 se presenta una gran destrucción de células parenquimatosas o hepatocitos. Se ha sugerido que los restos de membrana de dichas células actúan sobre las células de Kupffer, modificando su fenotipo y alterando su metabolismo. Dichos restos membranales llevarían a cabo su función *in vivo*, de manera semejante a como actúan los lipopolisacáridos de *E. coli* sobre cultivos de macrófagos peritoneales (6). Por otro lado, existe la evidencia experimental de que el número de células de Kupffer, aumenta hasta seis ve-

ces en la intoxicación aguda con CCl_4 (9). Este incremento celular coadyuvaría al establecimiento del proceso inflamatorio.

Aunado a lo anterior, las células de Kupffer obtenidas de ratas tratadas con CCl_4 , producen y secretan al medio de cultivo factores solubles que estimulan la proliferación de fibroblastos en cultivo. Probablemente, estén siendo secretados *in vivo* factores de naturaleza similar y junto con la alteración en el número de células de Kupffer desencadenen el proceso de la fibogénesis hepática por CCl_4 .

Se puede generalizar que el posible mecanismo mediante el cual se establece la fibrosis hepática, independientemente del agente etiológico, es el mostrado en la figura 2. El daño puede llevarse a cabo por diferentes mecanismos, no obstante, el resultado final común es la modificación del fenotipo (activación) del macrófago hepático. Estas células, ahora producen monocinas que estimulan la proliferación de fibroblastos.

Debido al papel de los mediadores solubles (monocinas) en la regulación de la proliferación fibroblástica y en la síntesis de colágena, es muy importante profundizar más en la búsqueda y caracterización de tales factores.

De modo tal que se puede deducir que todas las células hepáticas son importantes. Debido a que mediante las interacciones entre ellas, ya sea por contacto directo o a través de la producción de mediadores se mantiene la función hepática normal. Sin embargo, si alguna de las células se modifica (fenotipo), tal y como ocurre en la cirrosis hepática, se pierde el control, se altera la homeostasis celular y se presenta un exceso en la proliferación de fibroblastos y en la síntesis de la colágena hepática.

BIBLIOGRAFIA

1. Rojkind, M. y Ponce-Noyola, P. (1982). The extracellular matrix of the liver. Coll. Rel. Res. 2: 151-175.
2. Ehrinpreis, M., Giambrone, M.A. y Rojkind, M. (1980). Liver proline oxidase activity and collagen synthesis in rats with cirrhosis induced by carbon tetrachloride. Biochem. Biophys. Acta. 629: 184-193.
3. Diegelmann, R. F., Guzelian, P. S., Gay, R., *et al.* (1983) Collagen formation by the hepatocyte in primary monolayer culture and *in vivo*. Science 219: 1343-1345.
4. Macarak, E. J. (1984). Collagen synthesis by cloned pulmonary artery endothelial cells. J. Cell. Phys. 119: 175-182.
5. Wyler, D.J. y Rossenwasser, L. J. (1982). Fibroblast stimulation in schistosomiasis. II. Functional and biochemical characteristics of egg granuloma-derived fibroblast-stimulating factor. J. Immunol., 129: 1706-1710.
6. Wahl, S.M. y Wahl, L.M. (1981). Modulation of fibroblast growth and function by monokines and lymphokines. In: Lymphokines, 2 Editor Pick, E., Academic Press, New York. pp. 179-201.
7. Johnson, R.L. y Ziff, M. (1976). Lymphokine stimulation of collagen accumulation. J. Clin. Invest. 58: 240-252.
8. Wahl, L. M. Olsen, C. E., Sandberg, A. L. y Mergenhagen, S. E. (1977). Prostaglandin regulation of macrophage collagenase production. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74: 4955-4958.
9. Rojkind, M. y Valadez, G. (1985) Regulation of fibroblast proliferation by Kupffer cells and monocyte. En: Proceedings Ciba Foundation Symposium. 208-215.

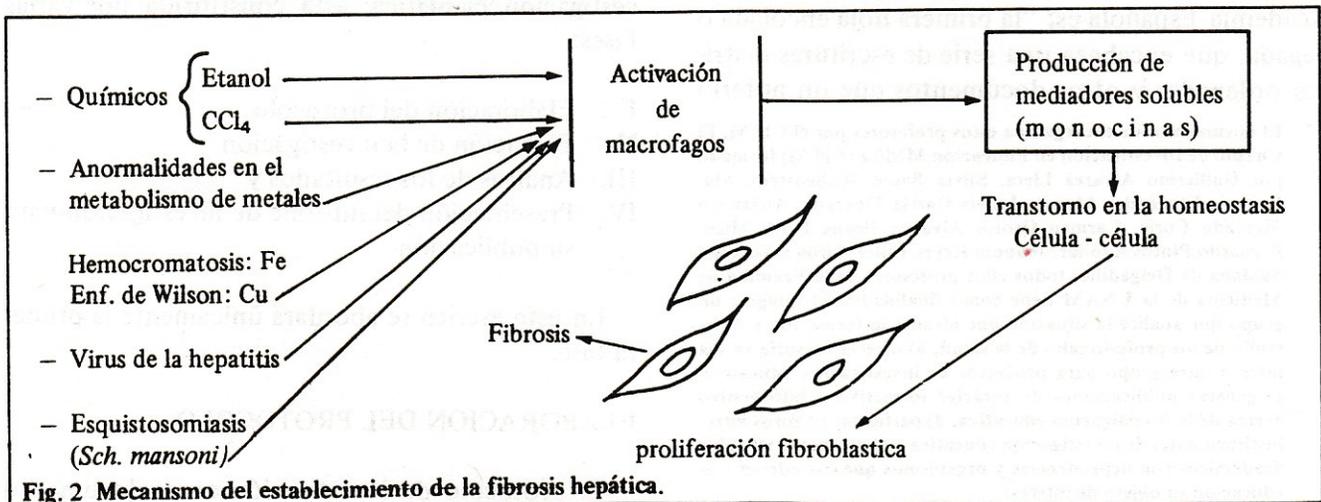


Fig. 2 Mecanismo del establecimiento de la fibrosis hepática.

PAUTAS PARA LA ELABORACION DE UN PROTOCOLO DE INVESTIGACION EDUCATIVA

Silvia Baum Wollenstein*, Guillermo Alvarez Llera* y Yolanda Saldaña de Delgadillo*. Facultad de Medicina, UNAM. Apartado Postal 70159, 04510. México.

INTRODUCCION

Con la integración del CIEM como grupo de trabajo, se expresó la intención de aportar escritos que propicien el desarrollo de la investigación educativa. Se consideró necesario iniciar esta tarea con la elaboración del documento inicial a todo trabajo o investigación formal: el protocolo de investigación, pues una de las dificultades comunes que encuentran los profesionales que se dedican al campo de la educación y que intentan realizar investigación radica precisamente en la elaboración de este documento.

Este trabajo reúne los elementos básicos que conforman casi cualquier protocolo de investigación, independientemente de la disciplina en la cual ésta se realice. No pretende ser un documento innovador, en realidad reúne algunas consideraciones que al respecto existen y que a juicio de los autores señalan las pautas a seguir para la elaboración de un protocolo de investigación.

Al tomar en consideración a los colegas que se inician en estas tareas, así como aquellos que las han realizado y se sienten inconformes, proponemos esta guía para su valoración y consulta. El vocablo protocolo significa según el Diccionario de la Real Academia Española es: "la primera hoja encolada o pegada, que encabeza una serie de escrituras matrices ordenadas y otros documentos que un notario

* El documento fue encargado a estos profesores por el CIEM. El Círculo de Investigación en Educación Médica (CIEM) formado por Guillermo Alvarez Llera, Silvia Baum Wollenstein, Ma. Eugenia Fernández Alonso, Julieta García Medrano, Alejandro Mercado Coria, Carmen Osorio Alvarez, Ileana Petra Micu, Bernardo Pintos Aguilar, Joaquín Reyes Tellez-Girón y Yolanda Saldaña de Delgadillo, todos ellos profesores de la Facultad de Medicina de la UNAM tiene como finalidades: a) integrar un grupo que analice la situación que afronta la formación y desarrollo de los profesionales de la salud, b) ofrecer asesoría ya sea inter o intra grupo para proyectos de investigación educativa, c) generar publicaciones de carácter formativo e informativo acerca de la investigación educativa, d) participar en foros inter-institucionales de investigación educativa y e) promover vínculos académicos con dependencias y organismos que consideren a la educación su objeto de interés.

o escribano autoriza y custodia con ciertas formalidades" aplicado al campo de la investigación, se refiere a un documento formal y ordenado que implica compromiso.

Lo que caracteriza muchas veces a una disciplina no es el tema de su interés, ni el objeto de estudio que suele ser idéntico al de otras ramas de la ciencia sino la técnica y el método con que colecciona sus materiales. El arqueólogo y el historiador pueden estar trabajando sobre el mismo problema y sus técnicas son distintas. Esto mismo ocurre con el químico y el biólogo y en infinidad de otros ejemplos.

Conscientes de que para cualquier investigación tanto de las ciencias naturales como de las ciencias sociales se requiere seguir una metodología semejante a la que se plantea en este documento, es importante señalar que lo que se pretende es ofrecer un resumen de las formas habituales para realizar un protocolo de investigación, basado en la bibliografía reciente en el campo de la investigación educativa.

La investigación educativa, al igual que toda investigación científica, está constituida por varias fases:

- I.- Elaboración del protocolo
- II.- Ejecución de la investigación
- III.- Análisis de los resultados y
- IV.- Presentación del informe de investigación para su publicación

En este escrito se abordará únicamente la primera fase.

ELABORACION DEL PROTOCOLO

El protocolo de investigación es un documento

escrito que describe cada una de las etapas del proceso desde la identificación del problema hasta las posibles conclusiones.

Dicho protocolo es un instrumento de extraordinaria utilidad para la investigación, ya que cuando está bien elaborado permite organizar las ideas con respecto al problema por investigar, así como saber si el trabajo es factible y si se cuenta con los recursos necesarios. Determina lo que se quiere obtener y establece objetivos, hipótesis, material y procedimientos y señala las fechas en que debe efectuarse el proceso. Evita pérdida de tiempo y anticipa los problemas.

Para poder elaborar un protocolo es fundamental tener una percepción global del campo de investigación, pues no debe tratarse de integrar la suma de incisos que forman un todo, sino partir de la concepción del conjunto que determinará sus partes.

También es de utilidad porque permite a las autoridades evaluar la factibilidad de la empresa, así como de los plazos a cumplir y de la relevancia del estudio. Además facilita los juicios sobre las demandas de personal y recursos y la posibilidad de otorgarlas oportunamente.

Por estos motivos se ha considerado pertinente difundir la guía para elaborar este documento, que en especial será de utilidad para quien realiza sus primeros trabajos de investigación educativa.

El protocolo se escribe con la mira de hacer su comprensión tan fácil como sea posible, por lo que es necesario organizar el material lógicamente y usar oraciones breves y concisas pues la meta de la escritura científica es la comunicación efectiva.

Es muy importante señalar que la elaboración del protocolo es un proceso dinámico por lo cual estará sujeto a modificaciones conforme se avanza en la investigación.

Título:

Se refiere al nombre del trabajo, que debe ser claro, breve, preciso y reflejar el propósito, alcances o resultados esperados de la investigación. En general informa lo más exactamente posible de la naturaleza de la investigación.

La catalogación de la abundante literatura existen-

te en base al título obliga a lograr el más adecuado al trabajo en cuestión.

Autores:

Son las personas que realizan el trabajo de investigación. Cuando en esta labor participan varios colaboradores es conveniente acordar desde el principio el orden en que serán mencionados, pues con frecuencia esta determinación puede convertirse en punto de fricción.

Generalmente se enlistan en orden decreciente de responsabilidad o participación y en caso de igualdad de responsabilidad el listado podrá ser en orden alfabético.

Cuando se trata de enfatizar el trabajo de equipo es posible elegir un nombre representativo que sustituya a los titulares.

Resumen:

Es conveniente presentar un resumen de aproximadamente 120 palabras en donde se describa el problema, la metodología, el número y tipo de sujetos, el diseño de investigación, el nivel de significancia que alcanzarían los resultados y las posibles conclusiones, este inciso es el último que se elabora.

La función de este apartado es presentar el planteamiento general de la investigación a quien revise o se interese en el protocolo.

Objetivo:

Todo profesional que ha decidido emprender una investigación está expresando una profunda inquietud por conocer, explicar, controlar o predecir algún fenómeno que llama su atención y que a su juicio merece ser tomado en consideración, porque al ocuparse de él se contribuirá al conocimiento científico. Así pues "el establecimiento de los objetivos es parte importante de cualquier estudio, ya que son los puntos de referencia que guían el desarrollo de una investigación y a cuyo logro se dirigen todos los esfuerzos" (1).

Al fijar los objetivos, el investigador debe cuidar de que sean congruentes con la justificación del estudio, bien fundamentados con alta probabilidad de ser alcanzados.

Antecedentes:

Los antecedentes son el cúmulo de conocimientos orales y escritos al que recurre el investigador y con los cuales se introduce al campo del fenómeno a estudiar y de lo realizado al respecto por otros investigadores que han compartido problemas relacionados con su proyecto de investigación, con lo cual se amplía y enriquece su conocimiento del problema.

En la elaboración de este apartado es importante reunir los siguientes aspectos.

a) Identificar y plantear el problema que se va investigar. b) Tener claras las razones por las cuales se llevará a cabo la investigación así como señalar las metas que se propone con el proyecto. c) Haber entrevistado a personas o en su caso revisado la literatura existente y poder señalar los argumentos relacionados con lo que se ha dado en investigaciones similares en un pasado reciente. d) Demostrar la funcionalidad y aplicabilidad de la investigación que se propone en el medio en que se realizará el trabajo, haciendo mención de las circunstancias en las que surge el problema. e) Señalar las estrategias de solución obtenidas por otros investigadores así como mencionar las citas bibliográficas y hemerográficas consultadas.

Los antecedentes nos introducen a la esencia del problema, nos ubican en la realidad y en la funcionalidad de la investigación que se pretende realizar. La búsqueda de los antecedentes debe hacerse lo más completa posible y antes de pasar a las siguientes fases del proyecto.

Planteamiento del problema:

Cuando el investigador logra sintetizar claramente en una pregunta el objeto principal de la investigación, delimita su campo de actividad y se sitúa en el contexto a investigar. "Los problemas científicos no son cuestiones morales ni éticas; por lo tanto es necesario abstenerse de formular preguntas de valor y juicio que la ciencia no puede responder" (2).

La definición y formulación precisa del problema de investigación es uno de los puntos más importantes a determinar y permite establecer su relevancia al contestar las siguientes preguntas. ¿Tiene amplias implicaciones? ¿Llena alguna laguna de investigación? ¿Permite generalizaciones aplicables a princi-

pios de teoría o a situaciones prácticas?, etc; una vez contestadas estas interrogantes u otras que formule el investigador se crean los elementos para la búsqueda y rescate del marco teórico y se procede a la elaboración del marco conceptual, ambos ligados necesariamente a los aspectos relevantes del problema.

Una vez revisados los antecedentes y consultado el marco teórico el problema queda claramente planteado y el investigador puede formular una estrategia sólida que permita responder a la pregunta principal de la investigación enmarcados en la teoría y en una situación concreta.

Marco Teórico:

En toda investigación existe un conjunto de conocimientos teóricos al cual es necesario recurrir antes de formular definitivamente el problema, pues no es concebible que una investigación se plantee sin relación con el acervo científico ya consolidado. La razón de esta aseveración radica en la necesidad de construir sobre bases firmes, dentro de un esquema que permita enriquecer o rectificar la ciencia. El marco teórico comprende el análisis histórico más que los antecedentes de la investigación.

Siendo el marco teórico el lienzo sobre el cual aparecen los diversos enfoques científicos, artísticos y filosóficos que convergen y dan sentido al tema de investigación, es necesario considerarlo, para ubicarse en el contexto general de los fenómenos que le son afines y delimitar sus alcances conceptuales; para ello es pertinente mencionar las teorías vigentes que explican el problema así como las relaciones entre las variables que se han comprobado.

La presentación de las teorías debe manejarse conjuntamente con las ideas, conceptos y experiencias que sobre el tema compartan los miembros del equipo constituyendo el marco conceptual, el cual a diferencia del teórico lo forma el equipo de investigación y es inherente a la justificación del estudio y a la conceptualización del problema.

En la elaboración de este inciso el investigador requiere manejar tres niveles de información.

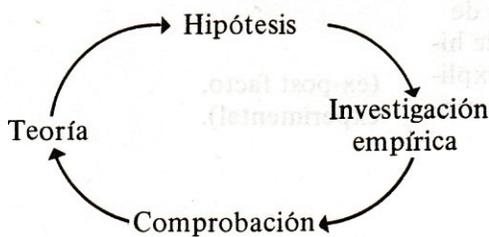
1. Las teorías vigentes relacionadas con el problema.
2. La información empírica secundaria o indirecta a través de publicaciones.

3. Los datos obtenidos directamente del acercamiento con la realidad.

Hipótesis:

“La hipótesis científica es aquella formulación que se apoya en un sistema de conocimientos organizados y sistematizados y que establece una relación entre dos o más variables para explicar y si es posible, predecir probabilísticamente los fenómenos que le interesan en caso de que se compruebe la relación establecida” (1).

La hipótesis es un instrumento toral en la investigación pues permite enlazar los conocimientos teóricos con la investigación empírica. Al apoyarse en el conjunto de conocimientos organizados y sistematizados, surge de la teoría y hace posible que sea ésta la que oriente a la investigación empírica. La hipótesis ha de ser comprobable y al demostrarse su certeza o falsedad permite conformar y modificar los sistemas teóricos y así se contribuye al progreso de la ciencia.



Las hipótesis, según Rojas Soriano, son de tres tipos.

I) Hipótesis descriptivas con una variable. Son afirmaciones sujetas a comprobación, que señalan la presencia de hechos o fenómenos pero no permiten explicarlos. Por ejemplo: La demanda de ingreso a las escuelas de Medicina de la UNAM presenta una tendencia ascendente para los alumnos que ingresan a través del concurso de selección.

II) Hipótesis descriptivas con dos o más variables en asociación o covarianza. Relacionan una variable con otra sin establecer causalidad. Por ejemplo: Existe una relación directamente proporcional entre el promedio con el que ingresan los alumnos a la

Facultad de Medicina y su desempeño académico en los ciclos básicos.

III) Hipótesis que relacionan dos o más variables con dependencia y establecen una relación causal que permite explicar y predecir los fenómenos, dentro de ciertos márgenes de error. Por ejemplo: La inyección intraperitoneal de acetaminofen, a la rata en dosis de 500 mg por kg de peso, ocasiona después de 3 h disminución del glucógeno hepático, daño celular en el hígado e hiperglucemia.

La hipótesis dirige la investigación pues las relaciones expresadas le indican al investigador que cosa ha de hacer y permiten deducir manifestaciones empíricas específicas e hipótesis secundarias; es por ello que el planteamiento de la hipótesis debe hacerse utilizando conceptos claros y precisos, con referentes empíricos que permitan la medición definiendo claramente las variables y unidades de análisis.

Es opcional delimitar los objetivos específicos que se pretenden con la investigación y que están directamente relacionados con las consecuencias de las hipótesis a comprobar, los cuales deben redactarse de tal manera que se adviertan como los logros más directos, inmediatos, observables y evaluables, que han de surgir como consecuencia de las actividades de la investigación.

Metodología:

La metodología es el conjunto de métodos y procedimientos para ordenar la actividad y junto con las técnicas constituyen las herramientas que permitirán implementar la investigación, tanto en sus aspectos teóricos como en sus actividades prácticas. Por ello el método está presente en todas las fases de la investigación, desde el planteamiento del problema, el acopio de la información, su análisis hasta las conclusiones.

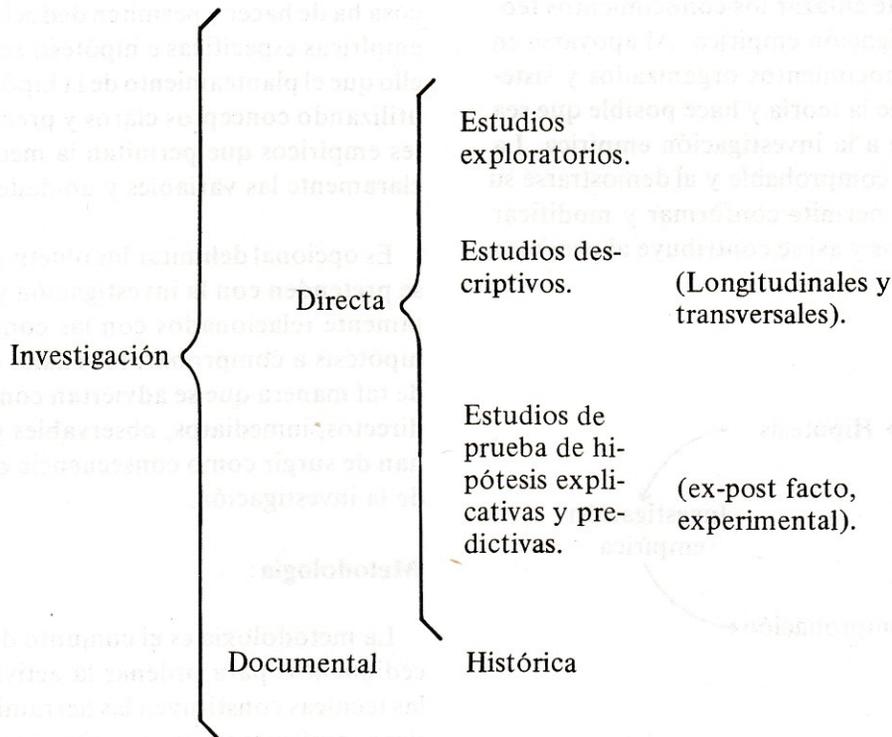
El método deriva de la teoría, pues es ésta la que señala cuáles son las características del objeto en estudio y permite al investigador seleccionar el método adecuado, que puede ser de naturaleza general, analítico, sintético, inductivo o deductivo o bien alguno de los métodos particulares que cada rama de la ciencia tiene como los más apropiados para su objeto de estudio.

La descripción de los métodos y técnicas a utilizar

debe ser detallada sólo en el caso de que sean originales o en aplicaciones innovadoras de técnicas tradicionales, en caso contrario es suficiente dar referencias acerca de la descripción original de los métodos.

Tipos de Investigación

El tipo de investigación a realizar depende del objeto de estudio. Así el investigador tendrá que decidir si se trata de un fenómeno o hecho que pueda ser conocido en forma directa o bien de modo documental.



En la investigación directa la información para el análisis del fenómeno se obtiene de la realidad (física o social) a través de técnicas como la observación, la entrevista estructurada y la encuesta entre otras; mientras que en la investigación documental se recurre a las fuentes históricas, monográficas, información estadística, censos; es decir a todos aquellos documentos que existen sobre el tema. Se sobreentiende que se utilizan los documentos también en la investigación directa como apoyo o complemento.

La investigación directa es entendida como un proceso que puede incluir una, dos o las tres modalidades siguientes:

Los estudios exploratorios constituyen un primer acercamiento con la realidad, tienen como propósito recabar información para reconocer, ubicar y definir problemas, fundamentar hipótesis y recoger ideas que permitan afinar la metodología.

Los estudios descriptivos se proponen obtener un panorama más preciso de la magnitud del problema o situación, permiten conocer las variables que se asocian y señalar los lineamientos para la prueba de las hipótesis.

Por último se concede la más alta valoración a los

estudios que implican la prueba de hipótesis explicativas y predictivas, puesto que su objetivo es determinar las causas de los fenómenos y establecer predicciones. El aspecto de mayor valor en este tipo de estudios es el poder que se obtiene al predecir y controlar los fenómenos.

Población y Muestra:

El investigador social deberá prestar atención especial a la elección de la parte de la población que someterá a estudio, precisa determinar a cuántas personas aplicará el instrumento de recolección de datos ya que con excepción de los censos, las inves-

tigaciones se realizan con un reducido número de casos que representan, teóricamente las características de la población que interesa y motiva al estudio.

Las muestras pueden ser chicas o grandes y distinto el grado de dificultad para integrarlas. Muchas veces la información que aportan está en función de su tamaño y en otras, a pesar de que sigan creciendo ya no aportan datos adicionales. Esto depende de la variabilidad del fenómeno explorado, de la estructuración de los instrumentos de recolección de datos, de las técnicas estadísticas a emplear para el análisis y de la generalización potencial de los resultados.

El objetivo de trabajar con muestras consiste en poder estimar parámetros a partir de los datos que se obtengan. La consistencia de las generalizaciones y la validez de los resultados descansa en el tamaño, la calidad de las muestras en que se basan y del instrumento de evaluación.

Por lo tanto, el investigador se enfrenta a la necesidad de conseguir una buena muestra, esto es una muestra representativa de la población que le permite generalizar los resultados obtenidos con un adecuado nivel de confianza y precisión.

La estadística dedica un capítulo muy amplio al problema teórico y práctico del muestreo; señala los aspectos a considerar en la determinación de muestra tales como: los objetivos del estudio, la disponibilidad de recursos financieros, humanos y materiales, el nivel de confianza y precisión para estimar generalizaciones, la normalidad de la población, el instrumento de recolección de datos, el número de variables sujetas a investigación y el análisis estadístico.

Nótese que el elegir una muestra implica la consideración global del proyecto de investigación y requiere del conocimiento profundo de los elementos básicos del proyecto.

Existen varias clasificaciones del tipo de muestreo, la más común es: a) Muestras probabilísticas y b) Muestras no probabilísticas.

Los investigadores se esfuerzan por utilizar muestras probabilísticas siempre que sea factible. Sin embargo no resulta fácil integrarlas. Sus ventajas se atribuyen al cumplimiento de dos condiciones básicas: son aleatorias y probabilísticas. La aleatoriedad

se refiere a que en el proceso de selección de la muestra no intervengan los juicios y sesgos de quien la forma, sino que se integran de manera impersonal utilizando criterios establecidos, homogéneos, externos al investigador tales como la tabla de números aleatorios, etc.

El criterio de probabilidad implica el que todos los elementos que conforman la población tengan igual oportunidad de integrar la muestra y representen a la población.

Dentro del grupo de muestras probabilísticas existen varios tipos entre ellos se encuentran: Muestras aleatorias simples, estratificadas por racimos y sistemáticas.

Las muestras no probabilísticas tienen el inconveniente de limitar el grado de generalización; pocas veces permiten generalizar los datos a las poblaciones. Sus ventajas radican en la economía y comodidad para los investigadores. Como ejemplo de estas modalidades tenemos: muestras por cuotas, muestras intencionales o selectivas etc.

Existe una serie de procedimientos para el cálculo del tamaño muestral, y corresponde al investigador elegir el que más se adecúe a su proyecto de investigación.

Fuentes, métodos e instrumentos de recolección de datos:

Deben señalarse los documentos, métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos que se emplearán y anexar un ejemplar de los mismos, así como las instrucciones para su aplicación. Suelen tomarse en consideración los criterios de validez y confiabilidad que avalen estos instrumentos y señalarse las unidades en que se medirá la información, es decir las escalas de medición en que se ubicarán las observaciones.

Cuando un investigador se plantea un problema a estudiar procura llegar a la comprensión de los aspectos relevantes del mismo, así es como va precisando las formas más convenientes para medir aquello que le interesa y dependiendo de esto, buscará y seleccionará las fuentes, los métodos y los instrumentos de recolección de datos que le permitirán recabar la información necesaria para constatar las hipótesis de investigación.

Entre los aspectos que toma en consideración para determinar que procedimientos se utilizarán en la recolección de la información se encuentran las características, el problema, las hipótesis planteadas, las variables en cuestión y sus indicadores, el tipo y tamaño de la muestra, los recursos con que se cuenta y el tiempo destinado al trabajo de investigación. En función de todo ello el investigador elige sus herramientas de investigación.

Por fuentes de datos se entienden los documentos y las personas de donde se obtiene la información básica, los datos de la investigación.

“Para obtener la información sobre un mismo problema pueden emplearse métodos y técnicas distintos; sin embargo la relevante en la investigación científica radica en seleccionar los adecuados, dependiendo de la naturaleza del fenómeno, los objetivos del estudio y la perspectiva de análisis” (1).

Los métodos y las técnicas de recolección de datos son las herramientas de la investigación, estos permiten instrumentar las distintas etapas de la investigación dirigiendo los procesos mentales y las actividades prácticas hacia la consecución de los objetivos formulados.

El método es la manera de alcanzar el objetivo, y Rosental en su diccionario filosófico lo define como *“determinado procedimiento para ordenar la actividad”*, facilita la sistematización de los conocimientos e ideas propiciando que se descubran las leyes o regularidades a que está sometido lo que existe y sucede.

Los métodos pueden ser generales como analítico, sintético, inductivo, deductivo, experimental, etc. o particulares y son aquellos que cada disciplina ha desarrollado de acuerdo a sus propias necesidades y limitaciones siguiendo las normas que señala el método científico.

“La técnica es un conjunto de reglas y operaciones para el manejo de los instrumentos que auxilia al individuo en la aplicación de los métodos” (1). Por tanto la técnica debe adecuarse siempre al método que se utiliza.

Existe una diversidad de técnicas susceptibles a utilizar para indagar un mismo objeto de estudio y una técnica dada puede a su vez aplicarse en la investigación para diferentes objetos de conocimiento

por lo cual se requiere de una reflexión profunda y sistemática sobre las técnicas que existen para abordar los problemas de investigación, sus alcances y limitaciones, es fundamental analizar los indicadores, así como la disponibilidad de recursos con que se cuenta.

Según el tipo de información que se desee obtener existe una clasificación muy general de las técnicas en aquellas que se dedican a recopilar información primaria (encuesta, entrevista estructurada, observación, etc.) que difieren de las que obtienen información secundaria (fichas de trabajo, fichas bibliográficas, análisis de contenido, etc.).

Una vez que se eligen las técnicas se procede a la elección o bien a la elaboración de los instrumentos para recopilar la información. Para esto una vez más señalaremos el nexo que existe necesariamente en todos los componentes del trabajo de investigación pues estos elementos dependen de la hipótesis, de los marcos teórico y conceptual, etc.

Cualquier instrumento que se elija debe de cubrir los criterios de confiabilidad y validez requeridos. Es por ello que se prefiere aquellos que han sido probados y validados por otros investigadores con anterioridad. Deben señalarse las unidades en que se medirá la información y en caso de que los indicadores que deseamos comparar no puedan medirse con instrumentos estandarizados existentes, el investigador se da a la tarea de elaborarlos. Esto generalmente representa una labor minuciosa y prolongada para el investigador, cuestión que debe valorar cualquier persona que se de a esta tarea. Como ejemplos de estos instrumentos tenemos las fichas de trabajo bibliográficas, cuestionarios, cédulas de entrevista, lista de cotejo etc.

Tratamiento estadístico:

Los métodos estadísticos son una valiosa herramienta que le permite al investigador poner en evidencia las relaciones entre las variables, así como describir la población objeto del estudio resumiendo sus características principales, con medidas que hacen posible la comparación y el contraste de los grupos para sustentar las hipótesis planteadas. Mostrar, describir, comparar y analizar pueden ser algunos de los propósitos más relevantes del tratamiento estadístico de los datos y para esto el investigador dispone de diferentes tipos de análisis:

La *distribución de frecuencia y las gráficas* son métodos apropiados para describir y comparar los datos de las poblaciones mostrando las relaciones que guardan entre sí.

Las *medidas de tendencia central y variabilidad* que incluyen los promedios, la varianza y la desviación típica o estándar son medidas de resumen que describen en forma concisa a las poblaciones y que permiten la comparación y la prueba de relaciones. La varianza y la desviación típica como medidas acompañantes del promedio, informan sobre el grado de dispersión de los datos, al tiempo que validan las comparaciones entre las medias.

El *análisis de varianza* que es un método fundamental del análisis estadístico, determina las varianzas que provienen de diferentes fuentes y pone a prueba sus significación estadística. Es el método más apropiado para la investigación social.

El *análisis de perfiles*, compara los conjuntos de medidas que se aplican a individuos o grupos y ha dado lugar a métodos especiales como el diferencial semántico y la metodología Q.

El *análisis multivariable y el análisis factorial* consideran simultáneamente las relaciones entre muchas variables y son métodos muy adecuados para la investigación pedagógica.

La selección de los métodos de análisis estadístico que se han de utilizar para contrastar las hipótesis dependerá del planteamiento del problema de las hipótesis, del diseño y del muestreo utilizado. Es útil elaborar un listado de los cuadros y gráficas que se planea emplear para mostrar la información y anexarse un bosquejo con título completo, de cada uno de ellos, así como las medidas de resumen que se prevea utilizar para la descripción de los datos.

Deben señalarse los procedimientos para el cómputo de la información (palotes, tarjetas, proceso electrónico) y puede elaborarse un esquema que muestre los cruces de variables que se vayan a realizar.

Organización:

Tiene como propósito definir los aspectos prácti-

cos de la investigación que han de conducir al logro de los objetivos y es indispensables establecer los requerimientos de personal, equipo, medios físicos, impresiones, materiales y servicios que se erogarán en la planeación, ejecución, tratamiento estadístico de los datos y publicación de trabajo de investigación, para valorar la factibilidad de la misma al igual que realizar la adecuada distribución de los recursos.

Es recomendable especificar las funciones y responsabilidad de los participantes en la investigación, de tal manera que se aprecie la organización de los recursos humanos, a su vez determinar los recursos materiales y de servicios requeridos para la realización de la investigación, así como la duración, sitios y responsables de cada fase.

Es necesario también señalar los convenios intra, inter, o extra institucionales que se requieran al igual que considerar las revistas y reuniones en donde puedan ser difundidos los resultados de la investigación.

Un punto importante de la organización es la elaboración de un cronograma que datalle las fechas y duración de cada una de las etapas: planeación, pruebas preliminares, recolección, revisión, clasificación y recuento, presentación tabular y gráfica, descripción y análisis de datos y elaboración del informe. Esto permitirá el avance fluido y la valoración parcial en cada etapa.

Glosario:

Aún cuando el protocolo de investigación se redacta en lenguaje claro y común es frecuente definir conceptual y operativamente las variables y los vocablos técnicos utilizados.

Bibliografía:

Este es el último inciso que se incluye en el protocolo, en él se registra una lista de fuentes de información la cual tiene por objeto:

- 1) Dar reconocimiento a los estudios precedentes

que han hecho una contribución importante al trabajo que se pretende.

- 2) Indicar las fuentes a que pueden recurrir los lectores que deseen asegurarse de la fidelidad de las citas o ampliar sus conocimientos sobre los tópicos presentados en el estudio.
- 3) Demostrar que el autor ha recurrido a la literatura y a los métodos de investigación apropiados para el caso.

Como ejemplos para la presentación de la bibliografía se tienen las referencias que se encuentran al final de este trabajo.

Citas bibliográficas:

La cita refiere al lector a la fuente en que se apoya el escrito. Tiene por objeto probar un hecho, o reconocer una idea que contribuye al trabajo de interpretación. No deben citarse por tanto, los hechos ni las ideas que son del dominio público.

Las formas usuales de reconocer el trabajo de los demás son: mencionar al término de la cita el nombre del autor, acotar mediante un asterisco en una nota de pie de página o bien señalar con un número su ubicación en las referencias bibliográficas.

Notas de pie de página:

Las notas separadas del texto tienen por objeto proporcionar información adicional sin interrumpir la secuencia lógica del mismo.

Es común emplear números arábigos para indicar las notas de fuente de información; también es común utilizar asteriscos o dagas.

En algunas notas se escribe la referencia completa, cuando es un trabajo muy breve puede ser sustituida por bibliografía.

Cuando en el mismo capítulo se ha citado una obra, las referencias posteriores se hacen en forma abreviada y cuando no existe interferencia de otras

notas se utiliza la palabra *ibidem* o *ibid* para indicar "en el mismo lugar".

Cuando las referencias se suceden con frecuencia, habrá que repetir el nombre del autor en las referencias abreviadas, o bien la abreviatura *op. cit.* que se refiere a los vocablos *opus citatum* que significan obra mencionada.

En la elaboración del protocolo no se incluyen los incisos de Análisis de Resultados y Conclusiones pues corresponden a etapas posteriores de la investigación.

BIBLIOGRAFIA

1. Rojas Soriano R. (1985): Guía para realizar Investigaciones Sociales. Octava Edición. Ed. U.N.A.M.
2. Kerlinger, F.N. (1975): Investigación del Comportamiento. Técnicas y Metodología. Segunda Edición. Ed. Interamericana. México.

BIBLIOGRAFIA GENERAL

1. Vargas Domínguez, A. (1984): El protocolo de Investigación Médica. en Rev. Med. Hosp. Gral. Vol. XLII. México.
2. Fernández Alonso, M. E. (1984): Pautas para la presentación de un proyecto de investigación educativa. Documento de trabajo de la Secretaría de Educación Médica. Facultad de Medicina, U.N.A.M. México.
3. Coordinación de Investigación. (1982): Guía para la elaboración de un protocolo de investigación. Documento de trabajo del Depto. de Medicina General, Familiar y Comunitaria. Facultad de Medicina. U.N.A.M. México.
4. Departamento de Medicina Social, Medicina Preventiva y Salud Pública (1981): Instructivo para la elaboración del protocolo de investigación sociomédica. Documento de trabajo del Departamento de Medicina Social, Medicina Preventiva y Salud Pública. Facultad de Medicina, U.N.A.M. México.

NUEVA PERSPECTIVA EN EL MECANISMO DE ACCION DE LA INSULINA: EL RECEPTOR DE LA INSULINA

Edgar Zenteno, Sergio Pérez de Lara⁺ y Alonso de la Rosa⁺⁺. Depto de Bioquímica, Facultad de Medicina UNAM, ⁺ Escuela de Medicina Homeopática I.P.N. y ⁺⁺ Hospital de la Mujer, S.S.A. Apartado Postal 70-159. México, D.F., 04510.

Hasta hace muy poco tiempo la mayor parte de los trabajos encaminados a explicar el mecanismo de acción de la insulina en el organismo humano se habían enfocado primordialmente al conocimiento mismo de la estructura de la hormona, a su relación con otras hormonas o bien al efecto que tiene sobre la fisiología o el metabolismo celular. Por otro lado, muchos resultados han permitido identificar que cuando esta hormona no funciona correctamente esto se traduce en un estado patológico para el organismo, tal es el caso típico de la *Diabetes mellitus*. Pero considerando que esta enfermedad no puede ser, en todos los casos, el producto de una alteración de la estructura o bien de la concentración de la hormona, esto a sugerido que existen algunos mecanismos reguladores de la actividad de la hormona el cual puede ser su propio receptor en la superficie celular.

La Insulina

Esta hormona es un polipéptido de bajo peso molecular (6 000 daltons) que es sintetizada y secretada por las células beta del páncreas, es capaz de modular un número considerable de procesos que intervienen en el metabolismo, en el crecimiento y en la proliferación celular. Aunque en términos generales cualquier alteración en la estructura de la proteína, como por ejemplo la persistencia del péptido conectante, es motivo suficiente para que la hormona no funcione correctamente; se considera que la primera etapa limitante en la respuesta de las células a la insulina es el reconocimiento de la hormona por los receptores específicos situados en la superficie de las células blanco. Esta etapa de enlace es seguida por una serie de modificaciones a nivel de la membrana plasmática y en el interior de la célula a nivel citoplasmático, de las mitocondrias y del núcleo.

Efectivamente, la interacción de la insulina con sus receptores de superficie ha sido plenamente iden-

ción es transmitida de la superficie de las células hasta sus receptores intracelulares, no se conoce bien. Las observaciones realizadas durante los últimos años sugieren que la clave del problema podría residir en la estructura misma del receptor. Esto se ha puesto en evidencia al utilizar anticuerpos dirigidos contra el receptor insulínico o mediante proteínas que reconocen algunos de los componentes, que contienen carbohidratos, en el receptor como es el caso de las lectinas: concanavalina A y de germen de trigo (1, 2) las cuales son capaces de reproducir todos los efectos de la insulina, sugiriendo de paso que la información para la regulación de la actividad de la hormona está contenida en el receptor mismo más que en el ligando. De esta forma se ha hecho un requisito indispensable el conocimiento detallado de la estructura y de la dinámica del receptor insulínico para comprender mejor el mecanismo de acción de la insulina.

Estructura del Receptor

El receptor de la insulina ha sido identificado gracias al empleo de sustancias radiactivas, que permiten que algunas proteínas en la célula intacta sean marcadas, ya sea con ¹²⁵I, o bien por métodos biosintéticos con metionina marcada con ³⁵S o con carbohidratos marcados con tritio ³H. Posteriormente la superficie de la célula se solubiliza y los receptores marcados se precipitan por medio de anticuerpos o lectinas dirigidos contra el receptor de la insulina. De esta forma se han identificado dos subunidades de peso molecular de 130 000 daltons, llamada unidad alfa y otra de 95 000 daltons, llamada unidad beta, estas subunidades están enlazadas entre si por dos puentes disulfuro (fig. 1), también ha sido posible reconocer por estos métodos que únicamente la unidad alfa es la que se une a la insulina (3).

Endocitosis del Receptor de la Insulina

Mediante la utilización de técnicas de marcaje por foto-afinidad se ha demostrado que el receptor de la

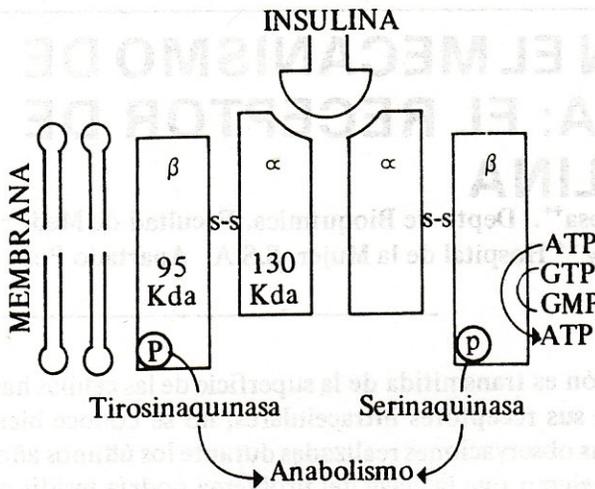


Figura 1. El receptor de la insulina. Mecanismo de transferencia del mensaje hormonal.

insulina se interna rápidamente después de que la hormona se ha fijado a la célula. Este fenómeno de endocitosis podría representar el primer paso para que la información contenida en el receptor sea transmitida a través de la membrana plasmática al interior de la célula, aunque hasta el momento no existe ninguna evidencia de que la insulina, el receptor o algún producto de sus degradaciones juegue el papel de mediador intracelular en los efectos de la hormona (4).

Fosforilación del Receptor

Uno de los aspectos más interesantes en el estudio del mecanismo de acción de la insulina ha sido el descubrimiento de la actividad de una proteína-quinasa asociada al receptor. Diversas observaciones han permitido llegar a esta conclusión:

1o. Cuando algunas células son preincubadas en presencia de $[\gamma^{32} \text{P}]-\text{ATP}$ la insulina induce la fosforilación de una proteína de un peso molecular cercano a 94 000 daltons; al precipitar estas proteínas con anticuerpos antirreceptor de la insulina, se ha podido reconocer que corresponde a la subunidad beta del receptor de la insulina.

2o. La insulina estimula igualmente la fosforilación de la subunidad beta del receptor cuando se agrega insulina sobre una población purificada de receptores incubados en presencia de $[\gamma^{32} \text{P}]-\text{ATP}$ (5, 6)

Estos datos sugieren que la actividad de quinasa está contenida en la subunidad beta del receptor, es-

ta actividad podría ser el resultado de un sistema de fosforilación, el cual podría estar regulado por la presencia de ATP o bien de GTP.

Aunque no se ha establecido formalmente cuál es la importancia biológica de esta fosforilación, este podría ser el primer paso de transmisión del mensaje hormonal.

En conclusión, el conocimiento de las propiedades intrínsecas de las diferentes subunidades del receptor de la insulina nos obliga a reexaminar las bases moleculares del mecanismo de acción de la insulina. La estructura misma del receptor insulínico constituye un sistema integral de transmisión transmembranal del mensaje hormonal, reconociendo a la hormona en la cara externa de la membrana y expresando por la cara citoplasmática una actividad de proteína-quinasa, finalmente se supone que estos sistemas sean dependientes de algún sistema receptor de la adenilato ciclasa, pero falta todavía demostrar que existe un vehículo intracelular de información y de igual forma falta conocer todavía si existen algunas alteraciones en todo este sistema de transmisión transmembranal del mensaje hormonal en el proceso de enfermedad.

BIBLIOGRAFIA

1. Zenteno, E., Parra, C., Rayón, I. y Montañón L. F. (1984). Las lectinas una útil herramienta en la biología molecular. Boletín de Educación Bioquímica III, No. 4: 17-21.
2. Hedó, J. A. (1984). Purification of the Insulin receptor. En Receptor purification procedures. Editor: Hedó J. Alan y R. Liss, New York pp 45-60.
3. Shia, M.A., y Pilch, P.F. (1983) The β subunit of the insulin receptor is an Insulin-Activated Protein Kinase. *Biochemistry* 22, 717-721.
4. Fehlman, M. y Van Obberghen, E. (1984) Des nouvelles perspectives dans l' action de l' insuline. *Biochimie* 66, 7-9.
5. Harrison, L. C., Itin, A., Kasuga, M. y Van Obberghen, E. (1982) *Diabetology* 22, 233-238.
6. Houslay, M. D. y Heyworth, C. M., (1983) Insulin: in a search of a mechanism. *Trends in Biochemistry Sciences* 8, 449-452.

INDICE DE REVISTAS

NUM. 67/año XII
Número de aniversario

ciencia y desarrollo

MARZO
ABRIL 1986

INDICE

Carta del editor	2
Cartas de nuestros lectores	3
El ágora de la ciencia	5
De frontera	7
Exploración submarina de ventillas hidrotermales en la Cuenca de Guaymas Luis A. Soto y Adolfo Molina Cruz	17
El investigador clínico en México Arturo Zárate Treviño	27
La gravitación universal Francisco Salvador Ramírez Avila	33
El Sistema Nacional de Investigadores Salvador Malo	55
La bomba y sus hombres. Segunda parte Horacio García Fernández	75
La cadena de interacción gobierno-ciencia-tecnología-industria Feliciano Sánchez Sinencio	93

101 Reflexiones

México: tecnologías y futuro
Víctor L. Urquidi y Antonio Alonso C.

109 Desarrollo científico y tecnológico

La participación del gobierno, las universidades y la industria en la política científica y tecnológica
Héctor Mayagoitia Domínguez

117 Descubriendo el Universo

Primeras observaciones de un cometa con un vehículo espacial
Héctor Pérez de Tejada

125 La era digital

Haga que su computadora imprima en español
Guillermo Hinojosa R.

129 Nota científica

El tecnecio, creación humana
Ma. Eugenia Ramírez de Arellano de Halter
y Silvia Bulbulian

135 Ciencia ficción

Fase Durango

145 Gente y sucesos

150 Cifras y datos

152 Los autores

155 Notas bibliográficas

Portada: *El caracol*, Henri Matisse, 1953.

ciencia y desarrollo

NUM. 70/AÑO XII

SEPTIEMBRE-OCTUBRE 1986

INDICE

Carta del editor	2
Cartas de nuestros lectores	3
El ágora de la ciencia	6
De frontera	9
Crecimiento de silicio monocristalino Alejandro Pedroza, Elsa Chavira y Raúl Fournier	25
La radiactividad en el habitat Nuria Segovia y Silvia Bulbulian	41
Contaminación de automóviles en la ciudad de México Francisco Casanova, Víctor Hugo Páramo y Antonio Gutiérrez	51
La nueva revolución industrial y su repercusión cultural Javier Esteinou Madrid	59

69 Desarrollo científico y tecnológico

SECOBI y la informática en México
Daniel Reséndiz Núñez

71 Reflexiones

Origen y difusión de la vacuna en el mundo:
Eduardo Jenner y Francisco Xavier de Balmis
Vicente Guarner

81 Descubriendo el Universo

Las fuentes compactas de rayos X en nuestra galaxia. I
Christine Allen y Gloria Koenigsberger

92 La era digital

Modelos auditivos por computadora
Luis Sánchez Sandoval

101 Ciencia y ficción

Orquideas
Adriana Rojas Córdoba

107 Gente y sucesos

111 Los autores

114 Cifras y datos

116 Notas bibliográficas

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. Las cuales se entregaran por separado en papel albano con tinta o como fotografías brillantes a blanco y negro. 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 figura 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 no deben ser menores a los 2 mm.
- 3) Sugerimos un máximo de 10 referencias tanto específicas como lecturas recomendadas numeradas en el texto en forma progresiva conforme vayan apareciendo. 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 el 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.