

BEB 88

BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA

VOLUMEN 7

No. 1

MARZO 1988

EDITORIAL

PROBLEMAS Y SOLUCIONES DEL BEB

En marzo de 1982 se distribuyó el primer número de nuestra publicación trimestral. El editorial que sigue a continuación da cuenta de algunos problemas del BEB y de soluciones, mismas que pudieran ser de utilidad para quienes aspiren a editar publicaciones periódicas relativas a difusión de la ciencia.

Cuando planeamos el primer número del BEB, el optimismo desbordante del Comité Editorial inicial nos impidió vislumbrar los barruntos de borrasca económica en la que nos sumíamos inmisericordemente a nivel nacional; como consecuencia propusimos el establecimiento de una publicación de distribución gratuita. No faltó quien nos recordara la idea del desaprecio por los bienes o servicios otorgados gratuitamente; sin embargo, procedimos como queda dicho. Hasta este número se mantiene la decisión inicial de distribuir el BEB a gratuidad; es obvio que uno de los problemas vividos se refiere a las limitaciones, los recursos económicos para sufragar los gastos de edición y distribución del BEB. Para resolver el problema hemos contado con 2 tipos de ayuda: el tiempo, siempre valioso tiempo, de los miembros del

Comité Editorial del BEB, y los recursos financieros de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT, México). Quien se ha distinguido, entre los integrantes del Comité Editorial, prodigando su tiempo en aras de la revista es Yolanda Saldaña; ella, sin regateos, destina un par de horas diarias a velar por incontables detalles relativos a la revista. El esfuerzo y dedicación de Yolanda no han sido reconocidos ni justipreciados en su sitio de adscripción en la Universidad. Una pequeña parte del tiempo de trabajo de la Srita. Alicia Arreguín también está destinado al BEB, gracias a la labor persuasiva de nuestra Coordinadora del Comité Editorial. Entre los miembros del Comité, unos más y otros menos, pero todos han cedido generosamente su tiempo y capacidad para mejorar la publicación. La contribución económica proporcionada por la UNAM ha provenido de su Facultad de Medicina y, más recientemente, del Sistema de Universidad Abierta (SUA). La, en un principio generosa, aportación de la Facultad de Medicina se ha burocratizado y es cada vez más irregular. La

pasa a la pág. 3

COMITE EDITORIAL

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

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



CONSEJO NACIONAL DE
CIENCIA Y TECNOLOGIA

DR. HECTOR MAYAGOITIA DOMINGUEZ

Director General

DR. JESUS GUZMAN GARCIA

Director Adjunto de Desarrollo Científico

INDICE

BEB 88 Vol. 7 Num. 1 Marzo 1988

EDITORIAL

PROBLEMAS Y SOLUCIONES DEL BEB

Enrique Piña Garza 1

ARTICULOS

BIOQUIMICA DE LA "EXPLOSION OXIDATIVA" EN EL MACROFAGO

Leonor Fernández Rivera Río 4

FUNCIONES BIOLOGICAS DE LOS MACROFAGOS Y ALGUNOS ASPECTOS FARMACOLOGICOS

Felipe Massó, Patricia Rosas y Lino Díaz de León 15

OTRAS COMUNICACIONES

PROTEINAS-G: LA INVESTIGACION ACLARA SU PAPEL EN LA

COMUNICACION CELULAR. RAWIS, R.L.

Guillermo Carvajal Sandoval (Comentarista). 24

TEXTBOOK OF BIOCHEMISTRY WITH CLINICAL CORRELATIONS. DEVLIN, T.M.

Yolanda Saldaña Balmori (Comentarista) 25

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DEL BOLETIN

DE EDUCACION BIOQUIMICA 26

BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA (BEB) es una publicación trimestral editada por su Comité Editorial. ISSN 0187/294X.

Correspondencia: Yolanda Saldaña de Delgadillo. Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina UNAM. Apdo. Postal 70159.

Delegación Coyoacán. 04510 México, D.F. Impresa en los Talleres de la Coordinación Sistema Universidad Abierta, UNAM,

Medicina 57, Col. Copilco-Universidad, C.P. 04360, México, D.F. Tiraje 2,000 ejemplares.

PROBLEMAS Y SOLUCIONES ...

participación del SUA, a través de su Coordinador, el Dr. Eduardo Téllez y Reyes Retana ha sido el símbolo de oportunidad y la hidalguía. Por su parte, el CONACYT, con decidido interés del Dr. Jesús Guzmán García, nos concedió durante tres años los correspondientes donativos, destinados primordialmente a la tipografía y distribución de la revista. A todos los que contribuyeron de corazón, gracias, muchas gracias.

Pero los problemas principales del BEB, a los ojos del Comité Editorial, se refieren a otros aspectos: dificultad para publicar los números en las fechas previstas, falta de comunicación con nuestros lectores, uso y utilidad real de la publicación y una insatisfecha sensación de responsabilidad. Como problema menor tenemos la crónica carencia de editoriales para el BEB. Unas líneas para cada problema.

La primera condición para identificar como seria y profesional una publicación científica es que aparezca con regularidad y oportunidad, es decir, en las fechas previstas. Desde hace algunos años esta condición no la ha podido satisfacer el BEB, lo cual constituye una afrenta para el Comité Editorial. En el deterioro hemos contribuido en distinto grado la mayoría de los actores. Así, ha habido desidia en la revisión oportuna de los trabajos recibidos, lentitud en la organización de los números, pero sin lugar a dudas, lo que ha hecho más lento el trabajo y nos causa mayor desaliento son los tiempos de impresión: mientras que en 1982 fueron de 1 semana por número, en 1986 llegaron a 9 meses por número. En 1987 iniciamos un sistema diferente de impresión y esperamos estar al día a fines de 1989. Es importante dejar constancia de que nunca nos han faltado buenos artículos científicos para satisfacer holgadamente la publicación del BEB.

Carecemos de algún tipo de comunicación con nuestros lectores por lo que nos resulta particularmente subjetiva la evaluación de

nuestro trabajo editorial, y sobre todo, la utilidad efectiva y real de nuestra publicación. En la preparación de cada número tratamos de satisfacer plenamente la demanda no siempre explícita de actualización, que creemos debe existir en muchos de los profesores que imparten cursos de bioquímica en centros de enseñanza superior, donde la actualización de los conocimientos de esta materia no tiene todo el apoyo institucional deseable. Ni siquiera podemos responder con certeza si los profesores tienen la inquietud y la disposición para actualizar sus conocimientos. Menos podemos asegurar que el BEB satisface dicha inquietud y disposición. Las visitas ocasionales de los profesores de la provincia mexicana a las oficinas del BEB, en la UNAM, nos hacen sentir útiles y satisfechos. Pero son los menos y tenemos una marcada predisposición a dejarnos seducir. Nos faltan datos sólidos. Nos gustaría oír demandas sobre los temas en que desearía adquirir actualización, sobre nuestros errores, sobre la bondad de los temas analizados, etc.

Otro problema más se refiere a la responsabilidad del Comité Editorial al calificar los artículos como adecuados o no adecuados para su publicación en el BEB. Es claro que el procedimiento es ampliamente usado a nivel internacional; sin embargo, la falta de tradición y en ocasiones el alejamiento con determinados temas nos lleva a tener razonables dudas sobre un, casi 30%, de artículos que no aceptamos para su publicación.

Por último, la falta de editoriales que nos dejen satisfechos es también un problema, por lo que nos permitimos solicitar a nuestros lectores, futuros editoriales que engalanen nuestra revista.

Nosotros continuaremos trabajando, ojalá tengamos respuesta por parte de algunos entusiastas lectores de las más de 1200 revistas que enviamos trimestralmente.

Enrique Piña Garza

BIOQUIMICA DE LA "EXPLOSION OXIDATIVA" EN EL MACROFAGO

Leonor Fernández Rivera Río

Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM. Apartado Postal 70159, México, D.F. 04510

DESARROLLO GENERAL DEL SISTEMA DE FAGOCITOS MONONUCLEARES

Elie Metchnikoff acuñó el término de fagocitosis para nombrar la capacidad para ingerir microorganismos presentes en algunas células de animales resistentes a algunas infecciones; y de fagocitos a las células capaces de esta función.

Hay dos tipos de fagocitos: a) Los leucocitos polimorfonucleares, que son células circulantes que emigran hacia los sitios de inflamación y b) Los fagocitos mononucleares que se encuentran fijos en los tejidos, o que emigran hacia los sitios de inflamación.

El sistema de fagocitos mononucleares está formado por células precursoras; monoblastos, promonocitos y monocitos que se alojan en la médula ósea; los macrófagos que se encuentran en los diferentes tejidos: histiocitos en tejido conectivo, macrófagos alveolares en pulmón, macrófagos pleurales y peritoneales en dichas cavidades, células de Kupffer en hígado, osteoclastos en hueso, células microgliales en sistema nervioso, células sinoviales en las articulaciones y macrófagos tisulares fijos a bazo, a ganglios linfáticos y a otros tejidos.

Las características más importantes de los macrófagos es su capacidad para fagocitar y la presencia de receptores Fc en su superficie. Los fagocitos mononucleares, después de su desarrollo en la médula ósea, migran a los tejidos a través de la sangre, en donde están sujetos a diferentes señales estimuladoras o inhibitoras, particularmente en situaciones en las que la homeostasis está alterada, tal como su-

cede en la inflamación. En estas situaciones, se alteran profundamente la forma, el metabolismo y la fisiología de estas células. George Mackaness y colaboradores dieron el nombre de "Macrófago Activado" al macrófago grande capaz de fagocitar y destruir a microorganismos y células neoplásicas.

Los macrófagos activados, tomados de sitios inflamatorios, presentan características diferentes de las de los macrófagos residentes (macrófagos presentes en los tejidos en ausencia de infección), entre las que están, el aumento en su tamaño y en el contenido de hidrolasas ácidas, aumento de secreción de proteasas y de otras ectoenzimas, aumento en quimiotaxis y fagocitosis. Conn y colaboradores demostraron que algunas sustancias activas en la superficie del macrófago inducen muchas de las modificaciones del macrófago inflamatorio.

En los casos en que la inflamación es mediada inmunológicamente, los macrófagos poseen la capacidad de procesar y presentar el antígeno a los linfocitos T, y de destruir células tumorales y parásitos intracelulares, además de las características presentes en los macrófagos activados.

Las capacidades de los macrófagos consideradas importantes para la maduración funcional, se pueden separar en tres categorías:

- a) Capacidades intracelulares participantes en el metabolismo de la célula y en la degradación de los materiales endocitados.
- b) Capacidades de la superficie celular, generalmente mediadas por receptores, encarga-

das de reconocer e interaccionar con gran cantidad de moléculas del medio externo.

c) Capacidades secretoras, involucradas en sintetizar, empacar y secretar gran cantidad de productos activos intra y extracelularmente.

En este trabajo, se intenta dar una visión panorámica de los sucesos bioquímicos más importantes que ocurren cuando un macrófago es estimulado y pasa a ser un "macrófago activado".

Durante los últimos años, ha habido gran cantidad de investigaciones que han permitido el conocimiento de los mecanismos por medio de los cuales los fagocitos son capaces de ejercer un papel importante en la defensa del huésped y en la evolución del proceso inflamatorio.

Estas células poseen una maquinaria muy compleja, localizada tanto en la membrana celular como en el citoplasma que permite la respuesta a diferentes estímulos, lo que se traduce en movimientos, endocitosis, producción de radicales libres de oxígeno y de peróxido de hidrógeno, secreción de enzimas, de factores almacenados en organelos intracelulares y de compuestos recién formados.

La respuesta más impresionante de los fagocitos al estímulo, es el cambio en el consumo de oxígeno (1). Esta respuesta llamada "Explosión Oxidativa" (EO), fué descubierta por Baldrige, Gerard y Abo, quienes describieron que los leucocitos de la sangre aumentan el consumo de oxígeno cuando fagocitan.

Durante los años 50, se hicieron varias observaciones fundamentales: la primera de ellas es que el consumo de oxígeno estimulado por la fagocitosis se acompaña de un aumento en el catabolismo de glucosa por la vía colateral de las pentosas (1). La segunda observación es que dicho consumo de oxígeno es insensible al cianuro y a otros inhibidores de la respiración mitocondrial.

En 1961 Iyer y colaboradores, demostraron por medio de un método indirecto, la producción de peróxido de hidrógeno durante la EO. En 1964, Rossi y su grupo (2) describieron una oxidasa de piridin nucleótido, más activa con NADPH que con NADH, cuya activación es la responsable de la EO. En 1967 Bahener y Nathan (3) y Holmes y colaboradores (4), descubrieron que los leucocitos de los pacientes con granulomatosis crónica, no presentan el fenómeno de EO durante la fagocitosis. Quié y colaboradores demostraron que estos linfocitos tienen una actividad bactericida defectuosa. Otro descubrimiento importante fué hecho por Babor y colaboradores en 1973, quienes presentaron evidencias de que en la activación de los neutrófilos humanos el aumento en la respiración se asocia a la producción de superóxido (fig. 1) (5).

Todos estos hallazgos, han servido para favorecer las investigaciones acerca de los mecanismos bioquímicos de la EO y de su papel biológico.

CARACTERISTICAS DE LA EXPLOSION OXIDATIVA

La EO ocurre en todos los fagocitos ya sean granulocitos, monocitos o macrófagos. La intensidad de la respiración varía de acuerdo al tipo de célula, de su estado funcional y a si es un fagocito residente o activado.

La EO es desencadenada por partículas fagocitables tales como bacterias, virus, materiales agregados, restos de células, etc. y por algunos factores solubles como péptidos quimiotácticos, lectinas, factores del complemento, calcio, ionóforos, leucotrienos, citocalasinas, ácidos grasos, detergentes, ésteres de forbol, diacilglicerol, factor activador de las plaquetas y endotoxinas. Es importante señalar que el aumento en el consumo de oxígeno se inicia cuando la partícula interacciona con la membrana plasmática, continúa mientras ésta es in-

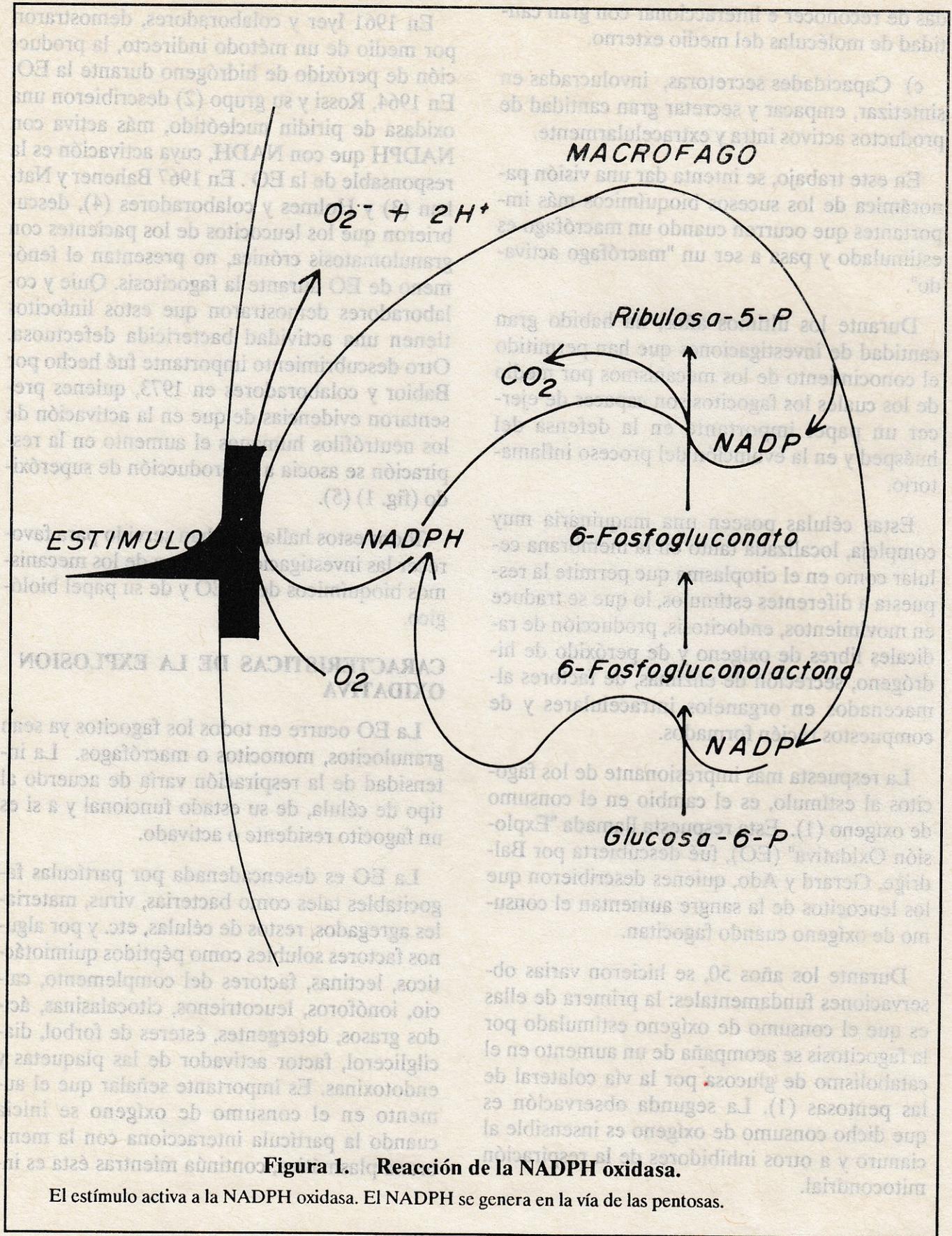


Figura 1. Reacción de la NADPH oxidasa.

El estímulo activa a la NADPH oxidasa. El NADPH se genera en la vía de las pentosas.

corporada y cesa cuando la fagocitosis se completa (5).

La EO se induce también cuando los fagocitos se adhieren a substratos no fagocitables, como son las superficies cubiertas con complejos inmunes.

El curso temporal de la EO varía dependiendo del tipo y la dosis del estímulo. En experimentos hechos con neutrófilos de cobayo infectados con *Bacillus subtilis* Klebanoff y Klark (contenido en 1) mostraron que en los neutrófilos aumentan el catabolismo de la glucosa G-1-¹⁴C y la liberación de superóxido y de agua oxigenada; al mismo tiempo que disminuye la población de bacterias durante los primeros 5 minutos de contacto.

La Tabla I, indica las reacciones que se han propuesto para explicar la aparición de iones y de sustancias bactericidas. El primer intermediario es el anión superóxido (reacción 1), que es liberado afuera de la célula, pero adentro de la vacuola de fagocitosis. En este sitio, la enzima superóxido dismutasa lo transforma en peróxido de hidrógeno (reacción 2). Este en presencia de pequeñas cantidades de iones metálicos produce iones oxhidrilo (reacción 3). Otra

posibilidad es la formación de haluros por la acción de la mieloperoxidasa (reacción 4); en este caso, la especie tóxica que se produce es probablemente el ácido hipocloroso.

ENZIMAS QUE INTERVIENEN EN LA EXPLOSION OXIDATIVA

Actualmente es aceptado que la enzima o sistema enzimático responsable de la EO es la NADPH oxidasa, enzima que fue descrita por primera vez en 1964, (citado en 5, 6). Esta enzima se localiza en la membrana plasmática; su activación se lleva a cabo únicamente en las porciones de la membrana que son invaginadas para formar el fagosoma, que es la porción de la membrana plasmática que se invagina y que envuelve a la partícula fagocitada. La activación de esta enzima permite la formación de compuestos tóxicos derivados del oxígeno, que son liberados en el sitio y el momento adecuados para la destrucción de los organismos fagocitados. Las moléculas solubles estimulan a la NADPH oxidasa en toda la extensión de la membrana plasmática.

Las propiedades más importantes de esta enzima son (5,6):

TABLA I
REACCIONES DE FORMACION DE PRODUCTOS BACTERICIDAS

REACCION	REFERENCIA
1. $O_2 + e^- \rightarrow O_2^-$	Babior y col. (1973)
2. $O_2^- + 2H \rightarrow H_2O_2$	
3. $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH^\cdot$	
La suma de estas reacciones	
$O_2^- + H_2O_2 \rightarrow O_2 + OH^- + OH^\cdot$	Waber y Weiss (1934)
4. $H_2O_2 + Cl^- \rightarrow OCl^- + H_2O$	

Reacciones tomadas de Mc Phail y Snyderman (5).

a) Es completamente inactiva en células en reposo y es activada cuando éstas son expuestas a un estímulo adecuado.

b) Cataliza la oxidación del NADPH producido en la vía de las pentosas durante la oxidación de la glucosa 6 fosfato (fig. 1)

c) La actividad es insensible al cianuro, la rotenona, la antimicina y el mixothiazol (inhibidores de la respiración mitocondrial), pero es sensible a sustancias capaces de reaccionar con grupos SH, como son el paracloromercuribenzoato, el azul de cibacrom, el sulfonato de

betafenantrolina y los análogos del FAD. Se ha observado que la actividad de esta enzima aumenta en presencia de los iones calcio y magnesio, y se inhibe en presencia de el EDTA.

d) La actividad se destruye cuando se trata a las membranas celulares con agentes solubilizadores de la membrana celular.

e) Su actividad requiere de ambiente lipídico.

f) Es activada en forma reversible aún cuando no se sabe cuál es el mecanismo de su activación y desactivación.

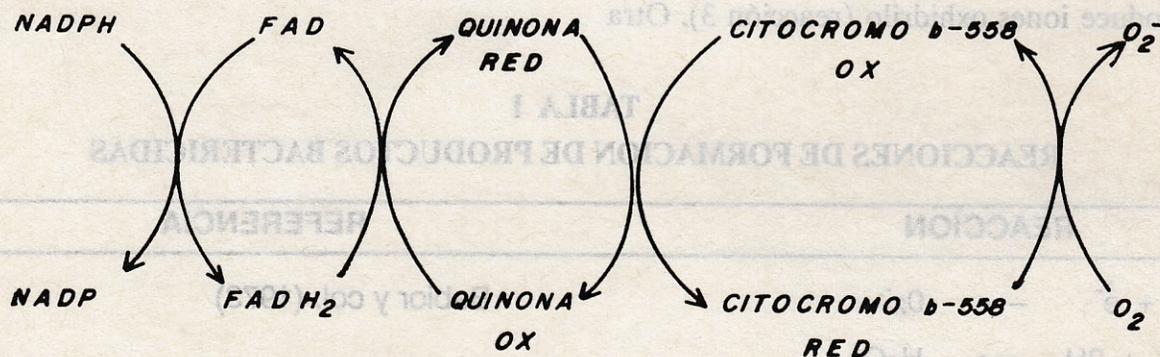


Figura 2. Mecanismo hipotético de la reacción de la NADPH oxidasa.

El NADPH dona sus equivalentes reductores a una flavoproteína y probablemente a una quinona; ésta a un citocromo b-588. El citocromo b-588 genera el ión superóxido. Los componentes de este sistema están en la membrana celular.

Las características mencionadas han hecho muy difícil el estudio de esta enzima; en la actualidad se acepta que la oxidasa está formada por una flavoproteína, un citocromo b-588 de bajo potencial eléctrico ($E_m 7.0 = -245 \text{ mV}$) y posiblemente algunas quinonas. Se acepta que estos componentes están colocados en la membrana celular como una cadena transportadora de electrones en donde la flavoproteína actúa como NADPH deshidrogenasa y citocromo b reductasa, posiblemente con la participación intermedia de algunas quinonas. El citocromo b-588, reduce al oxígeno y genera superóxido (figura 2).

El papel de la flavoproteína fue descubierto cuando se demostró que la enzima solubilizada por medio del tratamiento con Triton X-100 aumenta su actividad al añadir FAD a la mezcla de reacción (6). Otros hallazgos indican que esta actividad enzimática es inhibida por análogos del FAD como el 5-deaza FAD (7), además el FAD se reduce en las membranas y en los extractos de membranas tratadas con NADPH en anaerobiosis. Otra observación importante es la presencia de defectos en las flavoproteínas de pacientes con granulomatosis crónica.

Durante los últimos años se ha obtenido evidencia de que el citocromo b-558 está involucrado en el sistema de transporte de electrones de NADPH al oxígeno; el dato más importante es que el citocromo b-558 se encuentra solamente en las membranas celulares de los fagocitos y que su señal óptica no se detecta en los pacientes con granulomatosis crónica (8); este citocromo tiene un potencial estándar muy bajo (-245 mV) comparado con otros citocromos b, y parece ser el último eslabón en esta cadena oxidativa, ya que se une con mucha facilidad al monóxido de carbono y cataliza con alta velocidad la oxidación del oxígeno.

La participación de las quinonas en la reacción de NADPH oxidasa, está aún sujeta a controversia; los datos a favor son los siguientes:

- La ubiquinona se ha aislado de las membranas plasmáticas de los neutrófilos.

- La actividad de la NADPH reductasa es estimulada por la menadiona y está acompañada por la formación de superóxido.

- La ubiquinona y la duroquinona estimulan el consumo de oxígeno en leucocitos intactos en presencia de NADPH y de NADH (5,6). Se ha aislado la ubiquinona de los fagolisosomas de leucocitos en el momento de fagocitar.

Los datos en contra son: Que la concentración de quinonas en los neutrófilos es muy baja y está asociada a la fracción mitocondrial (6); Rossi y su grupo han demostrado en una fracción parcialmente purificada y activa de NADPH oxidasa la ausencia total de quinonas.

MECANISMOS DE ACTIVACION DE LA NADPH OXIDASA.

Para que la NADPH oxidasa se active tienen que ocurrir los siguientes pasos que se muestran en la figura 3:

- a) Interacción entre la superficie celular y el estímulo; este proceso es regulado por la afinidad y la cantidad de los receptores, el grado de ocupación y la velocidad de ocupación de los mismos.

- b) La transducción del estímulo recibido en la membrana celular, en una señal física o química intracelular a la que responde la célula. Los mecanismos de transducción que se han descrito son el cambio del potencial de membrana y la formación de prostaglandinas, hidroxiácidos, diacilglicerol y ácido fosfatídico, aumento en el transporte y la concentración intracelular de calcio, translocación de la proteína quinasa C del citosol a la membrana celular y aumento de la fosforilación de proteínas. La función de cada uno de estos cambios se desconoce, aún que se supone que todos tienen como función final a la activación de la NADPH oxidasa.

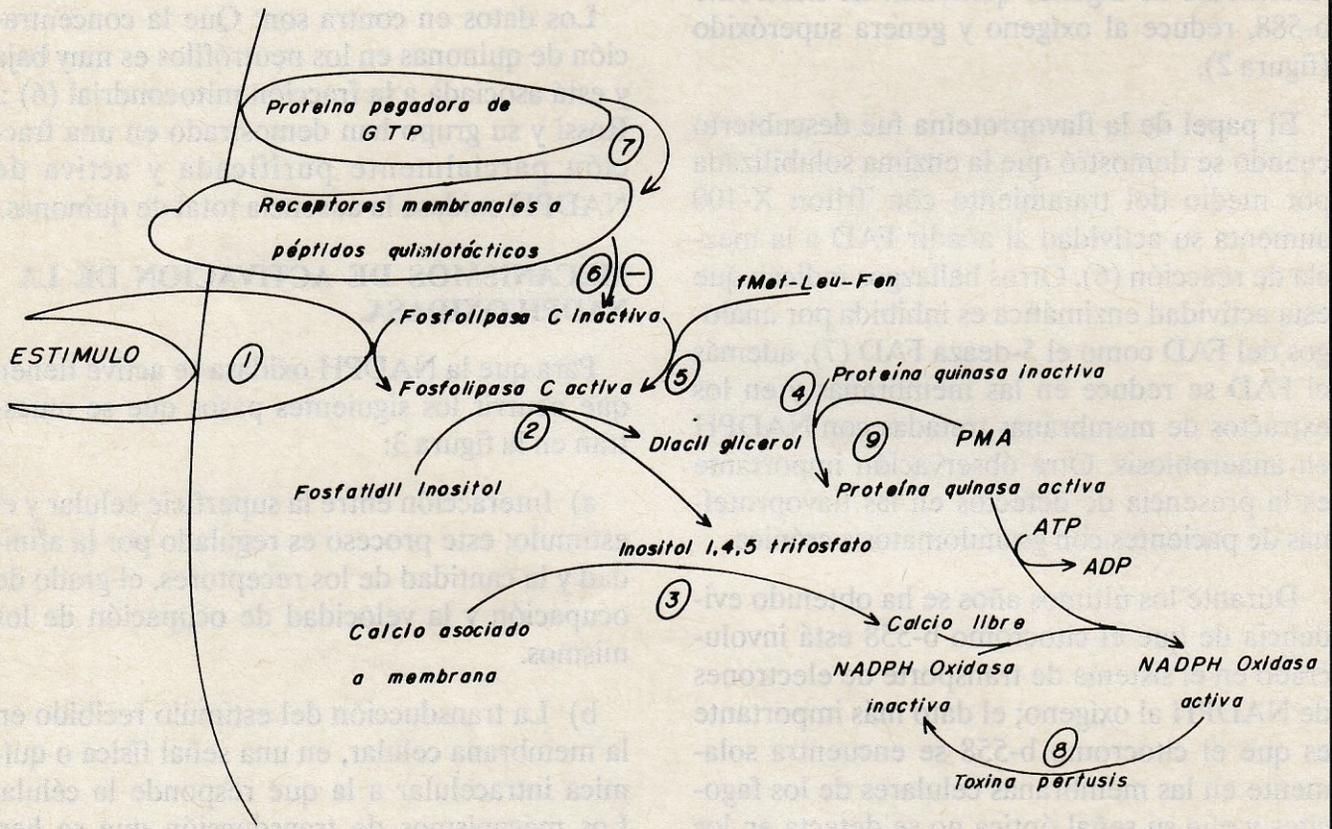


Figura 3. Regulación de la actividad de la NADPH oxidasa.

El agente estimulante se pega al receptor. Se produce la activación de la enzima fosfolipasa C; su acción sobre el fosfatidil inositol produce la liberación de inositol y de diacilglicerol; el primero, moviliza calcio de la membrana celular; el segundo, activa a la enzima proteína quinasa, misma que fosforila y activa a la NADPH oxidasa.

El calcio liberado de la membrana celular, también interviene en la activación de la NADPH oxidasa.

Como para muchos casos de respuestas específicas a receptores membranales en gran cantidad de células, las señales extracelulares en los leucocitos comprenden la activación y el recambio de fosfoinosítidos (6). Este proceso tiene lugar con agonistas que actúan como receptores movilizados por calcio; estos son los péptidos quimiotácticos, leucotrienos, concanavalina A y zimosan opsonizado.

Los agentes estimulantes cuya actividad no está asociada a cambios en la concentración de calcio citosólico, tales como los ésteres de forbol, el acilglicerol sintético y los asociados a la síntesis de AMP cíclico, no tienen esta actividad transductora.

Se propone que la secuencia de eventos en la transducción sea la siguiente (fig. 3):

1.- La interacción entre el agente estimulante y el receptor específico activa a la fosfolipasa C, (Evento 1, fig. 3).

2.- Esta hidroliza al fosfatidil inositol-4,5-bisfosfato, dando origen a la formación de inositol -1,4,5- trifosfato (Evento 2, fig. 3).

3.- Este es responsable de la movilización intracelular de calcio (Evento 3, fig. 3).

4.- En la reacción catalizada por la fosfolipasa C, también se produce diacilglicerol, que estimula a la proteína quinasa C (Evento 4, fig. 3).

Hasta ahora existen datos experimentales en favor y en contra de la relación entre la activación de la NADPH oxidasa y el recambio de fosfoinosítidos. Entre las relaciones a favor tenemos que:

1) El AMP cíclico inhibe la EO y el recambio de fosfoinosítidos activados por la incubación en fMet-Leu-Fen; (Evento 5 en la figura 3).

2) La interacción lenta entre los receptores membranales y péptidos quimiotácticos depri-

me tanto la EO como el recambio de fosfoinosítidos (Evento 6, fig. 3).

Entre la información en contra, se tiene que:

1) La activación del recambio de fosfoinosítidos se lleva a cabo con concentraciones de péptidos quimiotácticos mucho menores que las que se necesitan para activar a la EO.

2) Los inhibidores de la movilización del calcio, tales como el EDTA inhiben a la EO, pero no a la formación de inositol -1, 4, 5- trifosfato.

3) En los neutrófilos activados con el miristato-acetato de forbol(PMA) (Evento 9, fig. 3), la EO es potenciada por la fMet-Leu-Fen, mientras que el recambio de fosfoinosítidos es deprimido.

4) En los neutrófilos vaciados de calcio e iniciados con el PMA la fMet-Leu-Fen induce la EO en ausencia del recambio de fosfoinosítidos.

5) La fMet-Leu-Fen activa a la EO en forma independiente del recambio de fosfoinosítidos en los neutrófilos vaciados de calcio e iniciados con concanavalina A.

Los datos mencionados no apoyan una relación entre el recambio de fosfoinosítidos y la EO, sin embargo, la activación de la NADPH oxidasa se puede llevar a cabo por medio de diferentes caminos.

El aumento rápido de las concentraciones intracelulares de calcio, se debe a un cambio en la localización del calcio que es liberado de las membranas no mitocondriales al citosol. La interacción lenta entre la fMet-Leu-Fen y los receptores específicos, deprime la magnitud de la EO y la velocidad de movilización del calcio; estas respuestas a péptidos quimiotácticos se deprimen con inhibidores de la movilización de calcio. Los neutrófilos vaciados de calcio con menos de 10 nmolas / L no presentan EO cuando son estimulados por fMet-Leu-Fen.

Algunos reportes mencionan que la EO puede desencadenarse sin que se aumenten las concentraciones de calcio, por lo que la relación directa entre el aumento de calcio intracelular y la activación de la NADPH oxidasa no se observa en todos los casos.

Los datos actuales indican que las concentraciones de calcio son importantes para la estimulación de algunos agonistas, pero no son suficientes *per se* para explicar la activación de la EO, ya que es posible que se necesiten otras señales, como puede ser la secreción de enzimas liposomales. Hasta ahora, existen reportes contradictorios acerca de la acción del calcio sobre la NADPH oxidasa; algunos autores reportan una activación, otros autores señalan que el calcio no ejerce influencia en la actividad de esta enzima, e incluso hay reportes de inactivación de la NADPH oxidasa por el calcio (5,6).

Se sabe además que la proteína quinasa C dependiente de fosfolípidos, desempeña un papel importante en la transducción de señales (6). Se ha sugerido que esta proteína participa decisivamente en algunas funciones del leucocito, incluyendo a la EO. Los datos a favor de este punto de vista son que:

a) La proteína quinasa C actúa como receptor del PMA el cual es activador de la EO (Evento 9 fig. 3);

b) el diacilglicerol activa a la proteína quinasa C y estimula a la EO (Evento 4, fig. 3);

c) los ácidos grasos insaturados estimulan a la proteína quinasa C en homogenados, y a la EO en células intactas;

d) la asociación de fosfolípidos, de diacilglicerol y de ésteres de forbol con la membrana celular son obligatorios para la activación de la proteína quinasa C;

e) el tratamiento de leucocitos con PMA ocasiona la translocación y la redistribución de la proteína quinasa C;

f) la EO está asociada a un incremento de la fosforilación de proteínas, y

g) los activadores de la proteína quinasa C estimulan a la EO, mientras que los inhibidores de ésta inhiben a la EO.

Durante los últimos años se han obtenido datos que sugieren que la proteína pegadora de GTP actúa transmitiendo la señal de los receptores de péptidos quimiotácticos ocupados a las enzimas que hidrolizan a los fosfoinosítidos y así producen segundos mensajeros (9); lo anterior se ha demostrado con la toxina pertusis que inhibe a la proteína pegadora de GTP, lo que se traduce en una inhibición del recambio de fosfoinosítidos y de la EO (Evento 7, fig. 3). También se ha demostrado que es posible activar a la fosfolipasa C, específica para fosfoinosítidos, por medio de la administración de análogos del GTP.

Por otro lado, los ésteres de forbol y el diacilglicerol, muestran una actividad independiente de la toxina pertusis, ya que en este caso, la etapa en la que interviene la proteína pegadora de GTP es saltada.

En el caso de neutrófilos vaciados de calcio y preincubados con PMA, la toxina de pertusis inhibe la activación de la NADPH oxidasa (Evento 8, fig. 3) cuando se estimula a los neutrófilos con la fMet-Leu-Fen, en los que la EO tiene lugar independientemente del recambio de fosfoinosítidos. La toxina pertusis no inhibe la EO producida por la acción de la concanavalina A, y tampoco inhibe el recambio de fosfoinosítidos y el incremento en las concentraciones de calcio intracelular. Esto indica que estímulos diferentes pueden desencadenar diferentes secuencias de reacciones de transducción (6).

La estimulación de la oxidasa del NADPH es el último paso en la producción de la EO; se debe tener en cuenta que para que la EO se dé, es necesario que (5,6): a) se mantenga el estado de activación por el contacto continuo del

estimulador con su receptor; b) la interacción entre el agente quimiotáctico o concanavalina A, o ácido araquidónico, sea breve, lo que ocasiona un cambio continuo del estado activo al inactivo y una respuesta de vida media muy corta, que puede servir como mecanismo de control de la respuesta.

Hasta ahora se ignoran las bases moleculares de la activación de la NADPH oxidasa; sin embargo, se supone que esta activación debe consistir en el ensamble de componentes presentes en la membrana celular. También se supone que la activación de esta enzima se debe a una modificación química (acilación, metilación, fosforilación, etc.), que favorezca un cambio en la conformación de la proteína.

Un enfoque experimental que tal vez ayude a encontrar el mecanismo es la comparación de patrones electroforéticos de los extractos de las membranas celulares obtenidos de los macrófagos de enfermos con granulomatosis crónica y de individuos sanos.

Rossi y colaboradores (6) encontraron que una proteína extraída de los neutrófilos de cerdo, que parece ser el complejo de la NADPH oxidasa, está fosforilada cuando los macrófagos de los que se extrajo habían sido estimulados con el PMA. Gabig y Lefker (10), presentan datos que indican un acoplamiento entre una quinona y el citocromo b-558, cuando hay una fosforilación; mientras que Cross y colaboradores muestran que la reducción del FAD por NADPH es más rápida en la enzima activa que en la inactiva.

Otro mecanismo de activación que se ha propuesto es la translocación del citocromo b-558 de los gránulos de proteína quinasa o de flavoproteína.

Una observación que indica una activación por mecanismos diferentes a la fosforilación es que la NADPH oxidasa se puede activar en un sistema de células intactas cuando se le añaden detergentes aniónicos, lo que podría deberse a

un rearrreglo de los componentes de la membrana celular.

Se sabe que la estimulación secuencial con estímulos homólogos conduce a una disminución en la respuesta, debida probablemente a un decremento en la disponibilidad de receptores libres o a algún mecanismo adaptativo; por otro lado, la exposición previa de los leucocitos al estimulante, potencia la respuesta a un estímulo heterólogo.

De acuerdo con Mc Phail y Snyderman (5), la oxidasa parece estar regulada a tres niveles diferentes:

a) Con cualquier estímulo iniciador cuya dosis sea de por lo menos diez veces menor que la de iniciación; este estado de iniciación puede ser inducido independientemente de la estimulación de la oxidasa.

b) Una señal de activación de la oxidasa por medio de la fMet-Leu-Fen, que requiere niveles de calcio más altos y está acompañado de disección de microfilamentos por citocalasina C; este paso es inhibido por el EGTA o por la ausencia de citocalasina C.

c) El curso temporal de la iniciación es diferente al de la activación; el primero llega a un máximo entre los 15 y los 30 segundos y tiene muchos minutos de duración; mientras que el nivel activado llega al máximo a los 45 segundos y decae rápidamente.

El tratamiento prolongado de los macrófagos o de los granulocitos con factores inmunológicos, o no - inmunológicos como son el gamma interferón, lipopolisacárido, muramil dipéptido, *Corynebacterium parvum*, etc., aumentan la producción de intermediarios derivados del oxígeno en respuesta a agonistas o a material fagocitable; estos, se acompañan de cambios en las constantes cinéticas de la NADPH oxidasa.

El fenómeno de inactivación también presenta algunos problemas; algunos investigado-

res proponen que cuando la EO termina, el decremento en la actividad de la oxidasa depende de un proceso de inactivación irreversible debido a autodestrucción. Otro criterio es que se trata de un proceso reversible que cambia a la enzima a su estado inactivo; esta última hipótesis es la más probable, ya que el estado de activación se puede inhibir reversiblemente retirando al agonista.

En resumen, se puede decir, que la EO es un mecanismo presente en las células linfoides que permite la defensa del huésped mediante la síntesis controlada de radicales de oxígeno, que son tóxicos por sí mismos y que se generan

en sitios estratégicos, lo que permite la muerte y destrucción de organismos nocivos al huésped. El control de la EO, es muy estricto y se ejerce por varios mecanismos en los que aparentemente intervienen el flujo de calcio, la proteína quinasa C, el recambio de fosfoinosítidos y la proteína pegadora de GTP. Estos mecanismos de control son comunes a varias de las respuestas de las células linfoides e implican diferentes caminos de transducción de señales

Otro nivel de control se ejerce sobre la NADPH oxidasa que aparentemente sufre cambios conformacionales que regulan su actividad.

BIBLIOGRAFIA

1. Rossi, F., Bellavite, P. y Papini, E. (1986). *Respiratory response of phagocytes: Terminal NADPH oxidase and the mechanisms of its activation*. En *Biochemistry of Macrophages* 118: 172-195, Pitman, London.
2. Rossi, F. y Zatti, M. (1964) *Changes in the metabolic pattern of poly morpho-nuclear leucocytes during phagocytosis*. Br. J. Exp. Path. 45:548-559.
3. Bahener, R.L. y Nathan, C.D. (1967) *Leucocyte oxidase: Defective activity in chronic granulomatous disease*. Science 155:835-836.
4. Holmes, B., Page, A.R. y Good, R.A. (1967). *Studies on the metabolic activity of leucocytes from patients with a genetic abnormality of phagocytic function* J. Clin. Invest. 46:1422-1432.
5. Mc. Phail, C. y Snyderman, R. (1984). *Mechanisms of regulating the respiratory burst in leucocytes*. Contemp. Top. Immunobiol. 14:247-281.
6. Rossi, F. (1986). *The O⁻ forming NADPH oxidase of the phagocytes: Nature, mechanisms of activation and function*. Biochem. Biophys. Acta 853:65-89.
7. Babior, B.M. y Knipes, R.S. (1977). *Superoxide forming enzyme from human neutrophils: Evidence for flavin requirement*. Blood 50:517-524.
8. Segal, A.W. y Jones, O.T.G. (1978). *Novel cytochrome-b system in phagocytic vacuoles of human granulocytes*. Nature 276:515-517.
9. Varhese, M.W., Smith, C.D. y Snyderman, R. (1985) *Potential role of guanine nucleotide regulatory protein in chemottractant receptor mediated phospho inositide metabolism, calcium mobilization and cellular response by leucocytes*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 127:450-457.
10. Gabig, T.G. y Lefker, B.A. (1984). *Catalytic properties of the resolved flavoprotein and cytochrome b components of the NADPH dependent O⁻ generating oxidase from human neutrophils* Biochem. Biophys. Res. Commun. 118:430-436.

FUNCIONES BIOLÓGICAS DE LOS MACROFAGOS Y ALGUNOS ASPECTOS FARMACOLÓGICOS.

Felipe Massó¹, Patricia Rosas¹ y Lino Díaz de León^{1,2}

(1) Departamento de Bioquímica, Unidad de Investigación. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, Secretaría de Salud, México D.F.

(2) Departamento de Biología del Desarrollo, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Apdo. Postal 70228, 04510 México, D.F.

INTRODUCCION

La importancia biológica de los macrófagos como un medio para combatir las infecciones causadas por microorganismos, se hizo patente desde la descripción hecha por Metchnikoff, quien observó hacia fines del siglo pasado, que los fagocitos mononucleares de animales resistentes a cierto tipo de infecciones bacterianas, poseían una capacidad mayor para ingerir y destruir bacterias a las cuales los animales eran resistentes (1).

Es necesario aclarar que el término macrófago, que es el que se emplea con mayor frecuencia, describe a una gran variedad de células cuya característica principal es la de poseer la capacidad de ingerir macromoléculas, solubles o particuladas y presentar a la observación microscópica un núcleo nlobulado (mononuclear). Por esta última particularidad y debido a que no todas estas células son exactamente iguales, se designan mejor bajo el rubro de los fagocitos mononucleares.

Estrictamente hablando, los macrófagos son células derivadas de la serie monocítica, los cuales se encuentran libres en los espacios corporales como los alveolos y el peritoneo, así como en los tejidos conjuntivos donde reciben el nombre de histiocitos. Además, existen macrófagos fijos en otros tejidos linfoides como: médula ósea y ganglios linfáticos. Existen también otras células derivadas de la misma línea,

pero que poseen actividades especializadas, como es el caso de las células de Kupffer localizadas en los sinusoides hepáticos, los osteoclastos en el hueso, las células sinoviales, denominadas de tipo A, en las articulaciones o las células de la microglia en el sistema nervioso.

DIVERSIDAD DE COMPORTAMIENTO METABOLICO

El estado basal del fagocito mononuclear se denomina "residente", por encontrarse presente en un tejido determinado, pero sin estar sometido a ningún estímulo agudo en particular. Durante la inflamación, estas células derivan a un estado denominado "inflamatorio" o de "exudado", aumentando grandemente su capacidad secretoria, principalmente enzimática. Al enfrentarse a un estímulo antigénico, los macrófagos primeramente se convierten en macrófagos "excitados" o "competentes". Lo anterior significa que han sido estimulados de alguna manera y son capaces de desencadenar una respuesta inmune mucho más compleja con la participación de otras entidades celulares, así como de mediadores solubles.

Otro estadio metabólico lo representan los macrófagos "activados", los cuales fueron descritos durante la década de los años 60 por Mackannes (2), que al tratar de dilucidar las bases de la respuesta inmune celular de los parásitos intracelulares, tanto obligatorios como facultativos, observaron que los macrófagos aumentaban considerablemente de tamaño,

poseían una mayor adhesividad al vidrio, presentaban un incremento en el número de vacuolas intracitoplásmicas y elevaban su capacidad fagocítica. Posteriormente Evans y Alexander, así como Hibbs y Remington, encontraron que los macrófagos en dicho estado eran sumamente eficientes para destruir células neoplásicas, empezando desde entonces a definirse el término "activación", como una capacidad para mediar efectos antimicrobianos o antineoplásicos. Recientemente esta definición ha sido revisada, y se ha propuesto definir el estado de activación como: "la modulación adecuada de una o varias de las capacidades del macrófago, de tal suerte que una determinada función sea incrementada o aparezca cuando previamente no existía" (3).

Otra forma diferenciada de los macrófagos son las llamadas células epitelioides, las cuales al parecer derivan de los macrófagos presentes en el exudado. Estas células muestran una capacidad fagocítica disminuida, pero presentan un incremento en el retículo endoplásmico, lo cual sugiere una mayor actividad secretoria.

Por otra parte, y aún dentro de un mismo microambiente, la forma de comportamiento de estas células es muy diversa. De hecho, recientemente se han realizado varios estudios tratando de demostrar la heterogeneidad en la respuesta de diferentes poblaciones macrofágicas, separadas por su comportamiento en gradientes de centrifugación. Sin embargo, desafortunadamente y hasta el momento, aún cuando se habla de macrófagos activadores y/o supresores y su función está actualmente siendo caracterizada, todavía no se dispone de un marcador relativamente confiable por medio del cual puedan reconocerse las células específicas responsables de cada actividad biológica en una mezcla heterogénea, que es como se presentan en los tejidos.

Es indudable que existe una gran diversidad de entidades celulares, que son referidas con la misma denominación: MACROFAGOS, aún

cuando sus funciones pueden diferir. En virtud de lo anterior, consideramos necesario el definir cuales son las funciones biológicas adscritas a estas células.

FUNCIONES BIOLÓGICAS DE LOS MACROFAGOS

A pesar de que estas células fueron descritas inicialmente por su capacidad fagocítica, este enfoque ha demostrado ser sumamente limitado. En la actualidad se reconoce que el macrófago es una de las células más versátiles que existen en el organismo. Aunada a su actividad fagocítica, presenta otras funciones, tales como: presentación antigénica, destrucción o citólisis de células tumorales, secreción de enzimas y mediadores solubles, etc.

Para llevar a cabo su función fagocítica, los macrófagos requieren de por lo menos tres receptores membranales: el primero de ellos consiste en receptores para la región Fc de diferentes inmunoglobulinas, con distintas afinidades para diversos isotipos de las mismas. El receptor del tipo FcRI reconoce al isotipo IgG 2A y el Fc RII a los isotipos gamma 1 y gamma 2B. La interacción de los distintos ligandos con cada uno de estos receptores origina respuestas diferentes. Por ejemplo, al ocuparse el sitio Fc RI se origina un incremento en la actividad de la fosfolipasa A2, activándose posteriormente la cascada de mediadores derivados del ácido araquidónico. Estas observaciones son importantes ya que demuestran la capacidad, por parte del macrófago, de responder de una manera específica y diferente a un estímulo determinado.

Un segundo receptor importante para la fagocitosis, es el que reconoce a fragmentos de las proteínas del complemento. Existen dos tipos de receptores para C3, denominados CR-1 y CR-3; aparentemente estos receptores se encuentran siempre presentes durante todo el desarrollo y diferenciación de los macrófagos. No obstante, los macrófagos residentes son capaces de unir partículas recubiertas con C3, pero

no de ingerirlas; a diferencia de lo que ocurre con los macrófagos en otros estadios de estimulación. Otro receptor presente en la membrana de los macrófagos fagocíticos, reconoce al fragmento C5-A. También se ha demostrado que la cantidad de estos receptores, varía con el microambiente en el cual se localizan estas células, siendo de cuatro a cinco veces mayor en los macrófagos localizados en el peritoneo. Adicionalmente se ha demostrado, que su activación puede inducir la liberación de interleucina-1 e iniciar la quimiotaxis. Un último receptor membranal involucrado en la fagocitosis, reconoce a las glicoproteínas que poseen residuos terminales de manosa, fucosa o N-acetil-glucosamina. Aún cuando se supone que su actividad es fijar estructuras glicoproteicas de las bacterias, se ha encontrado, contradictoriamente, que el número de receptores se encuentra disminuido en los estadios de activación (4).

Posterior a la ingestión de partículas o microorganismos, los macrófagos requieren degradarlos; esto ocurre mediante la fusión del fagosoma con el lisosoma, que contiene una gran cantidad de enzimas proteolíticas de naturaleza ácida. Un bloqueo a esta nivel, puede inducir la permanencia de los agentes extraños dentro del macrófago, por largos períodos de tiempo e incluso ocasionar la destrucción del mismo.

La necesidad de la participación del macrófago en el desarrollo de la respuesta inmune, se puso de manifiesto en base a los trabajos de Mossier (5) y de otros, quienes demostraron utilizando la técnica de producción de anticuerpos *in vitro*, que linfocitos purificados eran incapaces de ofrecer una respuesta primaria a eritrocitos de carnero, a menos que se encontraran presentes en el cultivo, un cierto número de macrófagos. Aún más, era posible cultivar macrófagos en presencia del antígeno, lavar posteriormente las células para eliminar el antígeno libre, y al cocultivar estos macrófagos sensibilizados con linfocitos "vírgenes", se po-

drían obtener anticuerpos específicos contra el antígeno utilizado. Lo anterior indicaba que el antígeno debería de haber sido captado por el macrófago, el cual posteriormente había transmitido una "señal" adecuada, para que se llevara a cabo la producción de los anticuerpos específicos. Mossier también demostró la necesidad de la presencia de dos poblaciones diferentes de linfocitos (denominados T y B), para que esta respuesta se llevara a cabo.

En otro número de este mismo volumen, se discutirá con detalle el mecanismo de presentación antigénica; por lo que en esta sección solo habremos de señalar, que la ingestión de grandes macromoléculas por parte de los macrófagos va seguida por un proceso de degradación y/o modificación antigénica. Ese proceso no ha sido del todo aclarado y únicamente se le ha denominado "procesamiento antigénico". Sin embargo, si se sabe que se requiere de una posterior expresión de ciertos fragmentos de las macromoléculas en la membrana del macrófago, en coordinación con antígenos de histocompatibilidad, y que son necesarios para poder ser reconocidos por los receptores de las células T.

Por otra parte, se ha demostrado que algunos antígenos pequeños, o aquellos que son timo-independientes no requieren de este "procesamiento". Sin embargo, estos casos se consideran como excepciones.

Nuevamente consideramos necesario aclarar, que si bien en teoría, todos los macrófagos son capaces de efectuar esta función de presentación antigénica, incluyendo a las células de Kupffer, tradicionalmente consideradas como células cuya función principal es la degradación y la eliminación total de los antígenos provenientes principalmente del tracto gastrointestinal, pero que en condiciones adecuadas *in vitro* son capaces de realizar el procesamiento y la presentación antigénica, esta función no ocurre en el organismo vivo o lo hace de una manera mínima. Lo mismo sucede con otras

funciones biológicas en la mayoría de los macrófagos *in vivo*.

Otra de las funciones principales de los fagocitos mononucleares, es su capacidad para destruir células neoplásicas. Esta actividad se ejerce a través de varios pasos que son: a) La unión de los macrófagos a células tumorales mediada probablemente por receptores glicoproteicos, y b) La secreción de mediadores líticos, como es el caso de la proteasa citolítica, descrita recientemente, la cual es una serina-proteasa con un peso molecular de aproximadamente 40 000 daltones y que presenta una gran actividad citolítica (alcanza el 50% de citólisis a concentraciones tan bajas como 10^{-9} M). Se ha demostrado que esta actividad se potencia por la presencia de peróxido de hidrógeno (3).

Otra forma de lograr la lisis tumoral, es mediante la unión a células recubiertas de anticuerpos a través de receptores para Fc. Se ha observado que la unión a FcRI, propicia una lisis mayor que la unión a Fc RII, aún cuando se ha demostrado la participación de las dos uniones. Posterior a esta unión, se requiere nuevamente de la liberación de factores solubles para completar la necrosis.

Se han demostrado dos vías para llevar a cabo esta función: a) La llamada VIA CLASICA y que es la que se ha descrito más ampliamente y b) Una nueva vía denominada EFECTO CITOTOXICO DEPENDIENTE DE ANTICUERPOS (ECDA), la cual depende al parecer, de un isotipo especial de inmunoglobulina (IgG 2A) y difiere de la VIA CLASICA en que su tiempo de acción es mucho más lento. En la primera vía se requieren solamente de 4 a 6 horas para completar su actividad, mientras que para esta última se ha estimado un tiempo aproximado de 1 a 3 días.

Una última función de los fagocitos mononucleares a la cual nos referiremos en el presente trabajo, es su gran capacidad como célula secretora. Se han demostrado alrededor de

cientos de sustancias diferentes que son secretadas por los macrófagos. Dichas sustancias presentan una amplia gama de pesos moleculares, que van desde 32 daltones (para el anión superóxido), hasta 440 000 (como es el caso de la fibronectina).

En la Tabla I, se presenta una lista parcial de los productos liberados por los macrófagos, siendo éstos tan distintos como: hormonas polipeptídicas, v.gr. : interleucina-1; el factor de necrosis tumoral o el interferón alfa; factores del complemento e inhibidores de algunos de ellos; factores de coagulación; una gran variedad de enzimas; proteínas de la matriz extracelular; inhibidores de proteasas; oligopéptidos y lípidos bioactivos; hormonas esteroideas; productos metabólicos de purinas y pirimidinas; intermediarios del oxígeno y del nitrógeno.

Para hacer aún más interesante y complejo el estudio de estas células, debemos considerar que muchos de estos factores solubles liberados, ejercen funciones de autorregulación, incidiendo sobre los mismos fagocitos mononucleares, para inducirlos a liberar otra serie de factores solubles o bien completar otra serie de funciones más complejas.

En este sentido podemos considerar el caso de la interleucina-1, la que como podemos observar en la Tabla II, se comporta como una verdadera hormona, ejerciendo su acción no solamente a nivel de fagocito, sino también sobre una gran variedad de células del organismo, propiciando una respuesta general sumamente compleja. Por otra parte, factores diferentes pueden producir una respuesta o actividad semejante, o bien potenciar o neutralizar sus actividades al encontrarse presentes en un mismo microambiente.

Es por esta función secretora, que debiera considerarse a los fagocitos mononucleares, no únicamente como células pertenecientes al sistema inmune, sino como verdaderos moduladores del organismo. De esta manera, su presencia en ciertos estadios patológicos podría

TABLA I

PRODUCTOS DE SECRECION DE LOS FAGOCITOS MONONUCLEARES

HORMONAS POLIPEPTIDICAS

- | | |
|--|--|
| 01. Interleucina. | 02. Factor de necrosis tumoral. |
| 03. Interferón. | 04. Factor(es) de crecimiento plaquetarios. |
| 05. Factores de crecimiento para fibroblastos. | 06. Factores activadores de fibroblastos. |
| 07. Actividad semejante a insulina. | 08. Timosina B4. |
| 09. Eritropoyetina. | 10. Factor estimulante de colonias para granulocitos y macrófagos. |
| 11. Factor potenciador de colonias eritroides. | 12. Factor inductor de monocitopoyesis. |
| 13. Endorfina. | 14. Hormona adrenocorticotrópica. |
| 15. Factor de crecimiento para plasmocitomas. | 16. Factor activador de los neutrófilos. |

COMPONENTES DEL COMPLEMENTO

- | | |
|---|--|
| 01. Vía clásica: C1, C4, C2, C3 y C5. | 02. Vía alterna: Factor B, Factor D y properdina. |
| 03. Inhibidores: inactivador de C3b y 1H. | 04. Fragmentos activos generados por proteasas: C3a, C3b, C5a y Bb |

FACTORES DE COAGULACION

- | | |
|---|---|
| 01. Vía intrínseca: IX, X, V y protombina. | 02. Vía extrínseca: VII. |
| 03. Actividades de superficie: protombinasa. | 04. Actividades protombolíticas: activador de plasminógeno. |
| 05. Actividades antitrombolíticas: inhibidores de plasmina y del activador. | |

VARIAS ENZIMAS

- | | |
|---|--|
| 01. Proteasas neutras: activador de plasminógeno, collagenasa, elastasa, etc. | 02. Lipasas: fosfolipasa A ₂ , de lipoproteína. |
| 03. Glucosaminidasas: lisozima. | 04. Hidrolasas ácidas lisosomales. |
| 05. Deaminasas: arginasa. | |

OTRAS MACROMOLECULAS Y METABOLITOS

- | | |
|--|--|
| 01. Inhibidores de enzimas y citocinas. | 02. Proteínas de la matriz extracelular: fibronectina. |
| 03. Proteínas acarreadoras para metales y lípidos. | 04. Oligopéptidos bioactivos. |
| 05. Lípidos bioactivos. | 06. Hormonas esteroides. |
| 07. Productos de purinas y pirimidinas. | 08. Intermediarios reactivos de oxígeno y nitrógeno |

TABLA II

DIVERSIDAD DE ACCIONES METABOLICAS PRODUCIDAS POR LA INTERLEUCINA-1 Y EL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL (FNT)

CELULA BLANCO	ACCION PRODUCIDA O MODIFICACION
01. LINFOCITOS T.	- Co-mitogénesis, quimiotaxis.
02. LINFOCITOS B.	- Co-mitogénesis, expresión de antígenos Ia, quimiotaxis.
03. CELULAS ASESINAS NATURALES.	- Aumento de la citotoxicidad, expresión de receptores para IL-2
04. FAGOCITOS MONONUCLEARES.	- Inducción de la capacidad de secreción de intermediarios de oxígeno, actividad microbiana y citotóxica, secreción de FNT, IL-1 y tromboxano.
05. NEUTROFILOS	- Degranulación, liberación de enzimas lisosomales, secreción de intermediarios de oxígeno, tromboxano, aumento de capacidad fagocítica, expresión de receptores membranales para C3b.
06. EOSINOFILOS	- Citotoxicidad contra esquistosomas.
07. CELULAS ENDOTELIALES	- Proliferación, inducción de actividad anticoagulante, coagulante, disminución de la síntesis del activador del plasminógeno y de la activación de la proteína C, producción del factor activador de plaquetas, PGE ₂ , prostaciclina, IL-1, factor estimulador de colonias, inducción de antígenos HLA A y B, adhesión de neutrófilos y monocitos.
08. FIBROBLASTOS Y SINOVIOCIOS	- Aumento en la proliferación, síntesis de PGE ₂ , colagenasa, interferones gamma -1, gamma -2, inhibidor de proteasa, hialuronat factor estimulante de colonias, IL-1, expresión de antígenos HLA A y B, actividad antiviral.
09. CONDROCITOS.	- Aumento de colagenasa y PGE ₂ .
10. OSTEOCLASTOS.	- Incremento en la proliferación y reabsorción de hueso.
11. OSTEOBLASTOS.	- Disminución de la síntesis de hueso.
12. ADIPOCITOS.	- Baja en síntesis de lipoproteína lipasa.
13. MIOCITOS.	- Ruptura en proteínas, liberación de PGE ₂ , depolarización de la membrana.
14. HEPATOCITOS.	- Liberación de amiloide sérico A y P, factor B del complemento, haptoglobina alfa -2 macroglobulina, inhibición de síntesis de albúmina.
15. ASTROGLIA.	- Aumento en la proliferación.
16. CELULAS MESANGIALES.	- Secreción de proteasas neutras.
17. ISLOTES PANCREATICOS.	- Citotoxicidad.
18. CELULAS TUMORALES.	- Citotoxicidad.
19. ACCIONES "IN VIVO" SIN LOCALIZACION CIERTA	- Necrosis hemorrágica de tumores, aumento en plasma de: corticosteroides, recambio de aminoácidos, etc.

representar, lo mismo una complicación potencial que una respuesta favorable al organismo. De hecho, se pueden encontrar en la literatura reportes contradictorios, apoyando una u otra de las acciones (6, 7). Sin embargo, debería tomarse en consideración la amplia variedad de acciones de estas células, para explicar las aparentes contradicciones y concluir, que no es la presencia de estas entidades celulares la que determina el curso de una patología en particular, sino los estímulos del microambiente en que se encuentren y que estos a su vez determinan las actividades que las mismas ejercen.

INTERACCION CON FARMACOS

Como ha podido observarse, los fagocitos mononucleares son células que presentan un gran número de actividades biológicas las cuales intervienen en diferentes aspectos de la respuesta inmune, tanto a nivel antimicrobiano como antineoplásico, así como en distintos desórdenes de tipo inflamatorio y en la regulación de otras estirpes celulares. Siendo tan pleiotrópicas las actividades biológicas antes mencionadas, se ha considerado de suma importancia, el intentar controlar o poder inducir una o varias de estas funciones para aprovecharlas como un recurso terapéutico, mediante el uso de fármacos.

Sin embargo, lo anterior no ha podido lograrse de un modo adecuado hasta la fecha. Se ha observado que existen un gran número de sustancias que son tóxicas para estas células, incluyendo algunos antibióticos. No obstante, no ha sido posible aislar o sintetizar ningún fármaco que ejerza una actividad selectiva sobre alguna de las múltiples funciones que presentan los fagocitos mononucleares.

Por otra parte, se ha demostrado que existen fármacos que producen cambios en varias de estas funciones y que dan por resultado, fenómenos globales de supresión o potenciación, tanto *in vivo* como *in vitro*. Por ejemplo, los glucocorticoides inhiben la liberación de varias proteasas neutras (activador de plasminógeno,

elastasa, colagenasa, etc.), mientras que incrementan otra serie de enzimas (factor B, angiotensina convertasa, macrocortina, etc.), aún cuando su "actividad global" se inclina hacia la supresión. Es indudable que los macrófagos no son las únicas células capaces de responder a los glucocorticoides, por lo que el efecto observable *in vivo*, traduce más bien un complejo mecanismo de interacciones celulares.

Una sustancia capaz de disminuir la fagocitosis y la adhesividad de los macrófagos *in vitro* es el delta-9 tetrahidrocanabinol, cuyo principio activo ha sido aislado de la marihuana (*Cannabis indica*). Otros estudios han demostrado que drogas como la colchicina, son capaces de inhibir la liberación de fibronectina y de factor de crecimiento de fibroblastos (FCF) en macrófagos alveolares. Lo anterior da como resultado una disminución en la proliferación fibroblástica, por lo que potencialmente estos compuestos podrían ser de utilidad, al menos en un plano teórico, en el tratamiento y/o control de ciertas patologías pulmonares fibrosantes. A nivel experimental la ubiquinona 8, una proteína que desempeña un papel relevante en las oxidaciones biológicas tanto mitocondriales como de la membrana plasmática, ha demostrado la propiedad de incrementar la capacidad fagocítica de los macrófagos, debido principalmente a un aumento en el número de receptores para Fc de IgG. También se ha observado en estudios *in vitro*, que diversos estímulos inducen la producción de proteínas diferentes en macrófagos peritoneales. Algunas de estas proteínas han sido asociadas a actividades específicas; así, los macrófagos residentes presentan un patrón electroforético que difiere en tres proteínas con el observado en macrófagos estimulados con proteosa-peptona, tioglicolato o BCG, respectivamente. Estas proteínas tienen pesos moleculares de 23, 25 y 27 kdaltones, mientras que los macrófagos estimulados con proteosa-peptona sintetizan proteínas nuevas de 52 y 54 kdaltones. Con tioglicolato el patrón se modifica, apareciendo dos componentes proteicos de 14 y 28 kdaltones. Finalmente,

con BCG se produce una proteína de 26 kdaltones, la cuál aparentemente posee actividad tumoricida (8). El uso de BCG tuvo hasta hace poco tiempo una amplia difusión, ya que se ha observado que de alguna manera es capaz de mejorar clínicamente, aunque de una manera temporal, a un cierto número de pacientes con tumores como el melanoma.

Utilizando este último enfoque, se han valorado recientemente algunas drogas antineoplásicas para determinar su efecto sobre los fagocitos mononucleares y tratar de relacionarlo con su eficacia tumoricida. Así, se ha visto que la aclacinomicina y el cis-platino aumentan la actividad de macrófagos peritoneales murinos (9). El fluorouracilo y la doxorubicina mostraron también efectos análogos. Algunos derivados del muramildipéptido, una sustancia presente en las micobacterias, también han demostrado su capacidad para inducir actividad tumoricida y lograr una disminución de las metástasis (10). Otras drogas que actualmente se encuentran en fases iniciales de investigación, como es el caso del compuesto O,O,S-trimetil fosforotriato, han sido capaces de inducir *in vitro* macrófagos con actividad supresora (11).

También se ha puesto de manifiesto el papel del ión calcio (Ca^{2+}), en la regulación de algunas funciones de los fagocitos como la citotoxicidad, lo que ha llevado a probar la efectividad de algunos agentes que actúan sobre los canales de calcio como son la nifedipina y la ionomicina (1). La dinorfina y otros opioides que regulan el transporte del Ca^{2+} , incrementan la actividad tumoricida de estas células (12).

Además de los fármacos antes mencionados y que solamente conforman una parte muy pequeña de los intentos efectuados para tratar de "controlar" algunas de las capacidades de los fagocitos mononucleares, existen otros que han sido utilizados solos o en combinación con los anteriores, que presentan la capacidad de ser sustancias "inmunomoduladoras". Esto es, que dependiendo de la forma de administración,

cantidad del fármaco y el estado que guarda el sistema inmune en un momento determinado, pueden actuar como "potenciadores" o "supresores" dentro de ciertos límites.

A partir de los trabajos iniciales realizados por el grupo de Renoux con el levamisol (13), el entusiasmo inicial por este tipo de medicamentos ha tomado su nivel real. Actualmente no se le considera como la droga capaz de regresar cualquier alteración inmunológica a sus niveles normales, pero sí como un fármaco auxiliar valioso en combinación con otras sustancias. Los estudios realizados utilizando levamisol en combinación con BCG para el tratamiento de melanoma, no dieron los resultados espectaculares que se esperaban. Sin embargo, aún cuando los diferentes estudios clínicos revelaron una amplia gama de respuestas (que era de esperarse, ya que fármacos moduladores como el levamisol, actúan también sobre linfocitos B y T, y que estas actividades varían de acuerdo a la alteración presente), éstas eran más efectivas si el número de metástasis no era elevado, o bien si los pacientes se trataban en períodos muy iniciales. Observaciones personales nos han demostrado que algunos otros derivados benzimidazólicos, también presentan actividades sobre los macrófagos (Mebendazole: estudios en progreso).

Con el advenimiento de la ingeniería genética, algunos de los productos protéicos naturales bien pueden ya considerarse actualmente como fármacos, ya que su producción a gran escala permite considerar su uso como agentes terapéuticos. En este renglón, resulta interesante mencionar al interferón gamma el cual ha sido empleado recientemente en una gran variedad de estudios, encontrándose algunos reportes contradictorios en cuanto a su capacidad para inducir una mayor actividad antibacteriana por parte de los macrófagos (14, 15).

Otra sustancia en la que se han puesto grandes expectativas en este mismo contexto, es el factor de necrosis tumoral, el cual es producido

por los fagocitos mononucleares. Sin embargo, los estudios realizados hasta el momento han demostrado nuevamente que no se deben esperar resultados espectaculares. Si bien es cierto que esta sustancia disminuye en forma importante el número de metástasis e incrementa la sobrevivencia de los animales de experimentación, no elimina por completo la neoplasia y diferentes tipos de tumores varían en cuanto a su susceptibilidad al factor. No obstante, el factor de necrosis tumoral (FNT) es tal vez la sustancia con actividad antitumorigénica natural más potente. Es posible considerar que si se asocia a otras medidas terapéuticas, al

menos podrá contribuir a mejorar las perspectivas de vida de los pacientes.

Lo que se pretende con esta breve revisión sobre la acción de algunos fármacos y sus efectos sobre los fagocitos mononucleares, no intenta de ninguna manera cubrir todos los intentos realizados en este campo. Sin embargo, esperamos que sirva para ilustrar un poco la importancia que representa el poder contar con drogas más específicas, las que nos podrían ayudar a encauzar todo ese amplio potencial que representa la presencia y las funciones biológicas de los fagocitos mononucleares en el organismo.

BIBLIOGRAFIA

01. Metchnikoff, E. (1905) *Immunity to infectious diseases*. Cambridge/London/New York, Cambridge Univ. Press.
02. Mackannes, G.B. (1970) *The monocyte and cellular immunity*. Sem. Hematol. 7: 172-184.
03. Adams, D.O. y Hamilton, T.A. (1984) *The cell biology of macrophage activation*. Ann Rev. Immunol. 2: 283-313.
04. Imber, M., Pizzo, S.V., Johnson, W.J. y Adams, D.O. (1982) *Selective diminution of the binding of mannose by murine macrophages in the later stages of activation*. J. Biol. Chem. 257: 5129-5135.
05. Mossier, D.E. (1967) *A requirement for two cell types for antibody formation in vitro*. SCIENCE 158: 1573-1575.
06. Elias, J.A., Zurier, R.B., Schrelber, A.D., Left J.A. y Daniele, R.P. (1985) *Monocyte inhibition of lung fibroblast growth: relationship to fibroblast prostaglandin production and density defined monocyte subpopulations*. J. Leukocyte Biol. 37: 15-28.
07. De Lusto, F., Sherer, G.K. y LeRoy, E.C. (1980) *Human monocyte stimulation of fibroblast growth by a soluble mediator*. (S) J. Reticuloendothel. Soc. 28: 519-532.
08. Tannenbaum, C.S. Numori-McKernan, L. y Largen, M.T. (1987) *Diferential protein synthesis by murine peritoneal macrophages elicited by various stimuli*. Leukocyte Biol. J. 41: 527-538.
09. Bravo, A., Scott, D., Metzger, G., y Orbach-Arbouys, S. (1987) *Enhanced activity of mouse peritoneal cells after aclacinomycin administration*. Cancer Res. 47: 3477-3484.
10. Fidler, I.J., Fogler, W.E., Brownbill, A. y Schumann, G. (1987) *Systemic activation of tumoricidal properties in mouse macrophages and inhibition of melanoma metastases by the oral administration of MTP. PE, A Lipophilic muramyl dipeptide*. J. Immunol. 138: 4509-4514.
11. Rodgers, K.E., Imamura, T. y Devens, B.H. (1986) *Investigations into the mechanism of immunosuppression caused by acute treatment with O, O, S-Trimethyl Phosphoro-thioate: generation of suppressive macrophages from treated animals*. Immunopharmacology 12: 193-202.
12. Foster, J.S. y Moore, R.N. (1987) *Dynorphin and related opioid peptides enhance tumoricidal activity mediated by murine peritoneal macrophages*. J. Leukocyte Biol. 42: 171-174.
13. Renoux, G. y Renoux, M. (1974) *Modulation of immune reactivity by phenylimidothiazole salts in mice immunized by sheep red blood cells*. J. Immunol. 113: 779-790.
14. Flesch, I. y Kaufmann, S. H. (1987) *Mycobacterial growth inhibition by interferon gamma activated bone marrow macrophages and differential susceptibility among strains of *Mycobacterium tuberculosis**. J. Immunol. 138: 4408-4413.
15. Van Dissel, J.T., Stikkelbroeck, J.J., Browine, M M.C., Vanden Barselaar, M. Th., Leijh, P.C. y Van Furth, R. (1987) *Inability of recombinant interferon gamma to activate the antibacterial activity of mouse peritoneal macrophages against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium**. J. Immunol. 139: 1673-1678.

PROTEINAS-G: LA INVESTIGACION ACLARA SU PAPEL EN LA COMUNICACION CELULAR

Rawis, R.L., G-Proteins: Research unravels their role in cell communication, Chem. and Eng. News., 65: (51) 26-39 ((1987) Dic. 21.

Este es un excelente artículo que pone al día el conocimiento sobre estas importantes proteínas. Subraya su estructura y función. El artículo presenta muy bellos esquemas, que facilitan la comprensión de las variadas funciones de estas importantes moléculas.

Las células vivientes, desde los organismos unicelulares como las bacterias hasta las células individuales de organismos superiores complejos, incluyendo a los humanos, tienen la necesidad común de sentir su ambiente y responder a él apropiadamente. Las bacterias se mueven hacia su alimento o se alejan del peligro. En los organismos más complejos, las células musculares se contraen, las células nerviosas propagan los impulsos eléctricos y muchos diferentes tipos de células especializadas producen y secretan proteínas especiales que digieren el alimento, forman tejido conjuntivo o sirven como señales químicas para encender o apagar la actividad de otras células. Además, si las señales son las adecuadas, muchas células crecerán y se dividirán; en un ambiente diferente detendrán su crecimiento o multiplicación. Literalmente, miles de señales, usualmente químicas, pueden activar a las células haciendo que respondan en cientos de formas diferentes. Mantener todas estas comunicaciones correctamente es una tarea formidable y la dilucidación de cómo lo hacen las células es una de las áreas principales de investigación en la bioquímica contemporánea. A veces la comunicación se equivoca y cuando esto sucede las consecuencias pueden ser graves. Enfermedades importantes como el cólera y la tosferina, se cree que son ocasionadas a nivel bioquímico, por la interferencia en las vías de comunicación celular, lo que dá lugar a que las células respondan inadecuadamente a su ambiente. Otras enfermedades graves como la enferme-

dad maniaco-depresiva y muchas formas de cáncer, empieza a pensarse de ellas que son consecuencia del malfuncionamiento en la comunicación celular.

Al principio de la evolución, los organismos unicelulares desarrollaron formas para reconocer señales cruciales en su ambiente y lograron que esta información cruzara sus membranas celulares e ingresara al interior de la célula. Estas rutas parecen haberse retenido en los organismos superiores, como lo asevera Allen M. Spiegel, bioquímico de los NIH.

Se utilizan por las células, varios sistemas de información genéricos. Todos involucran a un receptor. Este es el discriminador de señales, capaz de tomar específica y sensiblemente las señales del exterior de las células. En un tipo de sistemas, el receptor está dentro de la célula. La señal -una hormona esteroidea como la cortisona- atraviesa la membrana celular para unirse a su receptor, lo que dá lugar a un cambio en el material genético de la célula (DNA) y, consecuentemente cambia en la síntesis de proteínas específicas. Debido a que los esteroides son moléculas lipofílicas, las hormonas esteroideas atraviesan fácilmente las membranas celulares.

En contraste, otras moléculas son hidrofílicas y no pueden pasar al través de las membranas celulares. Los receptores para estas moléculas están embebidos en la membrana y la atraviesan. Cuando una señal se une al receptor en el exterior de la célula, cambia la configuración de la molécula receptora de tal manera que dispara reacciones posteriores que involucran la porción del receptor que está dentro de la célula. En una clase de estos receptores que atraviesan la membrana, los receptores mismos son enzimas de un tipo llamado "tiro-

na-cinasas". Las enzimas de este tipo unen los grupos fosfato al aminoácido tirosina en ciertas proteínas clave.

Este es el sistema que se dispara por muchos factores de crecimiento y por hormonas como la insulina. Otro tipo de receptores que atraviesan la membrana, contienen dentro de él un canal o tunel que puede dejar pasar cationes pequeños como Na^+ o K^+ hacia dentro o hacia fuera de la célula. Ordinariamente este canal se encuentra cerrado pero cuando una molécula señal se une a un receptor de este tipo, el cambio resultante en la configuración del receptor abre el canal.

Un cuarto sistema involucra a receptores que carecen de actividad intrínseca de canales iónicos o de enzimas. Estos receptores están

acoplados a enzimas por una clase de proteínas conocidas como "proteínas que se unen a nucleótidos de guanina" o "proteínas G". Los receptores acoplados a las proteínas G, incluyen a los de la luz (encontrados en las células de los bastones de la retina) y las moléculas de mensajero como la epinefrina.

En este artículo se describen la estructura y función de las proteínas-G; el sistema del inositol-fosfato; los sistemas de proteína-G y la enfermedad maníaco-depresiva; el papel de las proteínas-G en la visión, terminando con la relación de estas proteínas-G con el cáncer.

Comentado por:

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

TEXTBOOK OF BIOCHEMISTRY WITH CLINICAL CORRELATIONS

Editado por Thomas M. Devlin. Hahnemann. University School of Medicine. Philadelphia, Pensilvania. John Wiley and Sons, New York. 1982, Second edition.

El presente es un libro con 26 capítulos, en donde el primero está dedicado a la estructura celular de los eucariotes; del capítulo segundo al catorceavo se revisan los mecanismos del estudio de las enzimas, la bioenergética, la química y el metabolismo de proteínas, carbohidratos y lípidos tanto a nivel de las vías generales como las especiales de cada uno de estos metabolitos; sus mecanismos de regulación, así como la interrelación de estas vías. Dos capítulos dedicados a las hormonas, tanto esteroideas como peptídicas y sus receptores involucrados. Cinco a la genética, incluyendo las modificaciones post-transcripcionales y post-traduccionales. En cuatro capítulos más se revisan las vías metabólicas particulares presentes en los diferentes órganos o tejidos, el metabolismo del hierro, transporte de gases y regulación de pH; y finalmente en dos capítulos más se estudia la nutrición a nivel de macro y micronutrientes.

Con este contenido, el presente, podría ser un libro más de Bioquímica; lo que lo torna diferente es que en cada uno de sus capítulos, los autores presentan varios casos de la correlación bioquímica-clínica conectada con el contenido del capítulo, así como una colección de preguntas y sus respuestas, dando la explicación de la misma.

Con todo esto, en sus 1 000 páginas el presente es un libro cuyo nivel es muy satisfactorio, ya que en la mayoría de los casos llega al fondo de los conceptos, apoyándose en muchas ocasiones de las figuras copiadas de los artículos originales que han aportado datos para ir construyendo el conocimiento de la Bioquímica.

Comentado por:

Yolanda Saldaña Balmori
Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina, UNAM.

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 artículo deberá enviarse capturado en cualquiera de los procesadores de texto "Word" o "Wordstar", sin ningún formato, con el texto cargado a la izquierda y con una extensión máxima de 18 mil caracteres, en un disco flexible de 5 1/4 pulgadas de 365 KB. El disco deberá ir acompañado de dos impresiones del artículo en el que deberán marcarse en color las palabras o líneas que deben ir en cursivas o negritas, así como todas aquellas anotaciones que desee. En el caso de no tener acceso a estos procesadores de texto, el manuscrito podrá enviarse a máquina, no debe exceder de 12 cuartillas escritas a doble espacio (27 renglones por cuartilla y 70 golpes por renglón).
- 2) Deberá incluir un resumen de mas o menos 10 renglones del trabajo que se esta presentando; enseguida escribir de 3 a 6 palabras clave para ser usadas como código en el catálogo internacional.
- 3) Se aceptarán como máximo 6 figuras o tablas. Las cuales se entregarán por separado en papel albanene con tinta o como fotografía 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 ó 1/4 de la hoja carta, las letras y números más pequeños no deben ser menores a los 2 mm.
- 4) 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 parentesis, título del artículo, nombre de la revista, volumen a cursiva y el número de la primera y ultima páginas.

Ejemplos:

a) 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 Genenbach, B.G. Academic Press. New York. pp. 49-55

b) Miller, C.O. (1982). Cytokinin Modification of Mitochondrial Function. *Plant Physiol*, 69. 1274-1277.

- 5) 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, relevante o significativos, información de tipo general, bolsa de trabajo, etc.
- 2) El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de una manera explícita.
- 3) El artículo deberá enviarse capturado en cualquiera de los procesadores de texto "Word" o "Wordstar", sin ningún formato, con el texto cargado a la izquierda y con una extensión máxima de 6 mil caracteres, en un disco flexible de 5 1/4 pulgadas de 365 KB. El disco deberá ir acompañado de dos impresiones del artículo en el que deberán marcarse en color las palabras o líneas que deben ir en cursivas o negritas, así como todas aquellas anotaciones que desee. En el caso de no tener acceso a estos procesadores de texto, el manuscrito podrá enviarse a máquina, debe ser de una a cuatro cuartillas de longitud, escrita a doble espacio (27 renglones por cuartilla y 70 golpes por línea).
- 4) Se aceptarán un máximo de dos referencias incluidas entre parentesis en el texto. En casos en que se juzgue necesario se podrá incluir una figura o tabla.

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

Envíe el diskette y las dos copias de los manuscritos a la Dra. Yolanda Saldaña de Delgadillo. Boletín de Educación Bioquímica, Apdo. Postal 70-381. 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 del BEB en su localidad.