ISSN 0187/294X

BEB 89

BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA

VOL. 8 No. 4 DICIEMBRE 1989

EDITORIAL

ACTITUDES Y ENSEÑANZA EN MEDICINA

Participo en la docencia de la bioquímica en nuestra Facultad de Medicina desde hace más de 30 años. En ese lapso me han tocado un buen número de cambios y ajustes, ahora me parece más de forma que de fondo. Menciono algunos de ellos. Grupos de todos los tamaños desde 20 hasta 200 alumnos, programas descriptivos muy detallados, programas por objetivos, cursos anuales, cursos semestrales, cursos de 4 meses y recientemente, de nuevo, cursos anuales. Participación en la docencia como ayudante, adjunto, titular, titular sin adjunto ni ayudante, titular sin adjunto pero con ayudante, y titular con adjunto sin ayudante. Me han tocado cursos de bioquímica con fisiología básica, de bioquímica clásica, de bioquímica con biología molecular y más recientemente de bioquímica con inmunología, a más de un par de cursos donde estaban integradas la bioquímica con la fisiología y la farmacología. He intervenido en cursos sin laboratorio, con 1 práctica a la semana y con 2 prácticas a la semana.

Las prácticas en el laboratorio de enseñanza han sufrido una amplia gama de variaciones: algunas son de 30 minutos de duración, la mayoría se realizan en un tiempo de 2 a 3 horas, pero las han habido hasta de 30 días de trabajo cotidiano. Se han empleado un sinnúmero de seres vivos: bacterias, hongos, papas, betabeles, zanahorias, alfalfa, ranas, tortugas, ratas, ratones, conejos, gatos, perros y hasta humanos, sin faltar extractos de hígado de caballo y bilis de buey. El ahora llamado "peso ponderal" de la calificación del laboratorio en la calificación global ha variado desde el 0 hasta el 50%.

Han existido unos 7 diferentes manuales de laboratorio y el tipo de prácticas varían desde experimentos de química orgánica diseñados a finales del siglo pasado hasta distribución de isótopos radiactivos e incluso elaboración de ambiciosos proyectos de investigación. Hay prácticas realizables por 1 solo alumno, otros por 2, 3, 4 o 5 y no faltan las demostraciones efectuadas por los llamados "profesores de laboratorio".

También he participado en cursos con correlación clínica, cursos con seminarios y asistencia y participación activa de profesores de clínica interesados y cursos sin correlación ni asistencia de dichos profesores.

Pasa a la pág. 67

COMITE EDITORIAL

ALFONSO CARABEZ TREJO
Instituto de Fisiología Celular, UNAM
GUILLERMO CARVAJAL SANDOVAL
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN
ALBERTO HAMABATA NISHIMUTA
Centro de Investigación y Estudios Avanzados, IPN
ALBERTO HUBERMAN WAJSMAN
Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán"
CARLOS LARRALDE RANGEL
Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM
JESUS MANUEL LEON CAZARES
Instituto de Fisiología Celular, UNAM
ENRIQUE PIÑA GARZA
Facultad de Medicina, UNAM
SERGIO SANCHEZ ESQUIVEL
Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

COORDINADOR EDITORIAL

YOLANDA SALDAÑA DE DELGADILLO
Facultad de Medicina, UNAM

EDITOR ASOCIADO
ALICIA CEA BONILLA
Facultad de Medicina, UNAM

ASISTENTE EDITORIAL
ELISA MORA
Facultad de Medicina, UNAM

Facultad de Medicina

UNAM

INDICE

BEB 89 Vol. 8 Num. 4 Diciembre 1989

EDITORIAL

ACTITUDES Y ENSEÑANZA EN MEDICINA
Enrique Piña Garza.....65

ARTICULOS

PTERINAS: UNA FAMILIA QUIMICA UBICUA EN LOS SERES VIVOS
Verónica Camín Cardín y Raúl Arredondo Peter.....69

¿EXISTE UNA PROTEINA QUE MEDIA EL MOVIMIENTO CELULAR?
Dirk Hol Soto Borja.....76

OTRAS COMUNICACIONES

DON ALBERTO SOLS, Presentación
Comité Editorial.....83

DEL BUEN DECIR... (2)
Comisión de Defensa del Lenguaje Bioquímico, Sociedad Mexicana de Bioquímica.....85

INDICE GENERAL DEL BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA.....86

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DEL BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA .....88.

BOLETIN DE EDUCACION BIOQUMICA (BEB), publicación trimestral de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C. Correspondencia: Comité Editorial, Apartado Postal 70-281, Coyoacán, C.P. 04510 México, D. F. Tiraje 1,300 ejemplares.

Viene de la pág. 65

ACTITUDES...

Los profesores de bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM ostentan, cuando menos, uno de los siguientes títulos: cirujano dentista, ingeniero químico, médico, médico cirujano, maestro en ciencias, biólogo, doctor en bioquímica, químico biólogo parasitólogo, maestro en investigación biomédica básica, químico, médico veterinario y zootecnista, licenciado en investigación biomédica básica, doctor en filosofía o Ph. D., doctor en investigación biomédica básica y nutriólogo.

La evaluación del rendimiento de los alumnos ha sido oral, oral y escrita y las más de las veces, exclusivamente escrita. Los exámenes escritos han sido por temas, por preguntas concretas, por preguntas en donde hay que completar frases y los exámenes pomposamente integrados con "reactivos de opción múltiple". Los exámenes se han realizado e instrumentado por un profesor o por el departamento, en este último caso, se gradúa el "grado de dificultad" de tales exámenes. El número de clases por semana ha sido de 6, cuando trabajábamos los sábados, de 5, de 3 y de 2. En tales cursos he tenido diferentes horarios, de 7 a 10 de la mañana, especialmente bueno ahora en virtud de que ya no puedo dormir mucho; de 10 a 13, de 14 a 17 y de las 17 a las 20 horas, excepto cuando eran sólo 2 clases a la semana, el horario era de las 16 a las 21 horas. Para estudiar la asignatura correspondiente al curso se le han solicitado al alumno distintos tipos de apoyo: libros de química, física, matemáticas y hasta estadística, libros de bioquímica escritos por eminente profesor extranjero, libros de bioquímica para posgraduados de Baltimore, apuntes apócrifos de bioquímica, la última traducción de un libro de bioquímica francés, libros de bioquímica escritos por el director de la Facultad, libros de bioquímica escritos por más de 50 expertos nacionales, libros de bioquímica con inmunología, libros de bioquímica con fisiología, libros de bioquímica con medicina, libros sobre las bases bioquímicas de la enfermedad, libros resumidos de bioquímica, libros de bioquímica para enfermeras y hasta tratados de bioquímica e inmunología. Me han tocado 4 planes de estudio diferentes, grandes marcos teóricos donde la bioquímica ocupa un modesto lugar al principio de la carrera, ya sea en el primer año o en el primer semestre, y menos frecuentemente en el segundo semestre.

Me he enterado y ocasionalmente he participado en diferentes proyectos de investigación docente, como en el del rendimiento comparativo de los alumnos de escuelas particulares y los de las preparatorias de la UNAM, en otro estudio se compara el rendimiento de los alumnos que cursaron su enseñanza media superior en las preparatorias o en los colegios de ciencias y humanidades, ambos de la UNAM. También se comparó el rendimiento de los alumnos que asistían a clases en la mañana con los asistentes en la tarde. Hay proyectos con títulos mucho más elaborados, como "Intercalación del área cognositiva y el área afectiva en el proceso de aprendizaje" o bien "Desarrollo de inteligencia en estudiantes de licenciatura", uno más, "Teoría de grafos aplicada a la enseñanza de la bioquímica", otro "Análisis del contenido del curso de bioquímica y aplicación de conceptos, procesos y procedimientos en bioquímica". También se estudió el rendimiento de los profesores en función de su formación profesional previa, y no faltó quien estudiara el rendimiento de los alumnos en función de su evaluación inicial. El último trabajo de la lista, que no exhaustiva, es el de "La planeación curricular y la educación bioquímica" el único que, hasta donde puedo recordar, se publicó en una revista internacional, de prestigio, y dedicada al tema.

La edad de mis alumnos ha fluctuado desde los 16 hasta los 50 años y ha tenido una aceptable distribución geográfica, así he tenido alumnos franceses, ingleses, españoles, judíos, otomíes, una alumna china, japoneses, zapotecas,

Pasa a la pág. 68

Viene de la pág. 67

ACTITUDES...

dominicanos, cubanos, gringos, canadienses, chilenos, nahoas, argentinos, peruanos, ecuatorianos, yucatecos, y desde luego, la mayoría mexicanos.

En medio de este torbellino quisiera rescatar unas cuantas ideas que espero continúen sirviéndome de guía ante los cambios del porvenir y ojalá sean de provecho a hombres necios que insistan en continuar con una labor docente.

Los integrantes invariables del proceso enseñanza-aprendizaje, los mismos desde la Grecia de Sócrates, son los alumnos y el profesor, quienes interactúan durante el acto docente. ¿Cuál es el papel primordial de ambos? El papel principal del profesor no es tanto enseñar, sino motivar, convencer, incentivar a sus alumnos de que la materia que él enseña es la más importante de toda la vida, y que el alumno deberá invertir muchas, muchas horas en estudiarla y dominarla. Para ello habrá de incidir en la mente de su alumno y modular las actitudes del alumno en favor de lo que enseña.

Al alumno le toca la parte más activa y ardua del proceso: le toca estudiar para aprender la materia, y aprenderá muchísimo más por el mismo y con su esfuerzo, que lo que aprenderá de sus maestros. Para que el alumno esté dispuesto a aprender habrá de contar con una actitud positiva hacia ésa materia, habrá de estar dispuesto a dedicar un enorme número de horas a estudiarla y lo hará porque fue convencido de hacerlo así. En concreto, el proceso enseñanza-aprendizaje consistirá esencialmente en la influencia y capacidad del maestro para motivar e inducir en sus alumnos una actitud favorable hacia la materia en cuestión. Solo los estudiantes altamente motivados manifestarán una actitud favorable y una plena disposición a invertir con gusto un gran tiempo en el estudio genuino de dicha materia. Ojalá contemos con muchos maestros con sabiduría para influir en las actitudes; ojalá contemos con muchos alumnos con mente ágil y moldeable para aceptar con entusiasmo un cambio, un ajuste en sus actitudes.

Termino con un probervio chino: Kuan Yin Tse escribió en el siglo VIII: "Aquellos que son buenos arqueros aprendieron del arco y no de Yin el Arquero. Aquellos que saben navegar aprendieron de los barcos y no de Wo el legendario y poderoso Barquero. Aquellos que saben pensar aprendieron de ellos mismos y no de los sabios".

Enrique Piña Garza

PTERINAS: UNA FAMILIA QUIMICA UBICUA EN LOS SERES VIVOS

Camin Cardin, Verónica[1] y Arredondo Peter, Raúl[2]

[1]Laboratorio de Bioquímica Microbiana, Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Prol. Carpio y Plan de Ayala, Col. Sto. Tomás, 11340 México, D.F.
[2]Departamento de Microbiología, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, Apdo. Postal 70-242, México 04510, D.F.

GENERALIDADES

Hopkins estudió a finales del siglo pasado los pigmentos anaranjado y amarillo presentes en las alas de las mariposas que pertenecen a la familia *Pieridae*. A principios de este siglo, en 1925, Wieland y Schöpt nombraron a estos pigmentos "pterinas" (del griego: πτερον-ala), y en 1936 Schopt y Becker introdujeron el término de "pteridina", el cual comprendía a compuestos relacionados responsables de la pigmentación de las alas de las Pieridae. La estructura de la primer pteridina, la leucopterina, la descubrió Purrman en 1940 (1). Estos compuestos se han aislado a partir de microorganismos, plantas y animales, sin embargo, es en el grupo de los insectos en donde se les encuentra en la mayor concentración y diversidad, con la excepción de algunos anfibios y reptiles (2).

ESTRUCTURA, PROPIEDADES Y BIOSINTESIS

Las pteridinas se definen desde el punto de vista estructural como aquellos compuestos que se derivan del anillo básico de pirimidina-pirazina, las pteridinas naturales, que son derivados 2-amino-4-hidroxi de este anillo, se conocen como "pterinas". El ácido fólico y sus derivados, con un substituyente de p-aminobenzoil-glutamato en el carbono 6 [C6], se conocen como pterinas "conjugadas", mientras que al resto de las pterinas se les denomina "no conjugadas" (Fig 1). Estas últimas se clasifican de acuerdo con los substituyentes en los carbonos C6 y C7 (Tabla I).

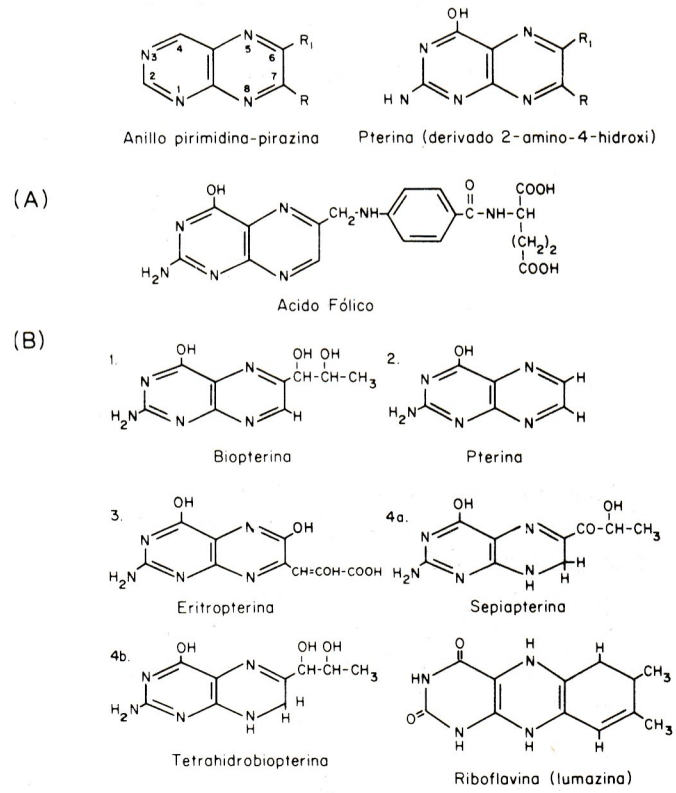

Figura 1. Estructura de las Pterinas. A) Conjugadas, y B) No conjugadas. (Sintetizado de 1).

Tabla I.

Clasificación de las pterinas no conjugadas.

(Sintetizado de 1).

SUBSTITUCION EN EL CARBONO	SUBSTITUYENTE (RADICAL)	PTERINA
1) C6		
C6 y/o C7	R_1 = -CHOH-CHOH-CH_3 R_2 = -H	Biopterina
	R_1 = -CHOH-CHOH-CH_2OH R_2 = -H	Neopterina
2) C6 y/o C7	R_1 = R_2 -H	Pterina
	R_1 = -COOH R_2 = -H	Acido 6 carbónico-pterina
	R_1 = -OH R_2 = -H	Xantopterina
	R_1 = R_2 = -OH	Leucopterina
	R_1 = -OH R_2 = -OH	Isoxantopterina
	R_1 = -COOH R_2 = -OH	Acido 6 carbó nico-isoxantopterina
3) C7	R_1 = -OH R_2 = -CH = COH-COOH	Eritropterina
	R_1 = -OH R_2 = -CH = CNH_2-COOH	Lepidopterina
	R_1 = -OH R_2 = -CH_2-CHOH-COOH	Ecapterina
4a.) Pterinas dihidrogenadas		
C6 o C7	R_1 = R_2 = -H	7,8 dihidro-pterina
	R_1 = -CO-CHOH-CH_3 R_2 = -H	Sepiapterina
	R_1 = -CO-CH_2-CH_3 R_2 = -H	Isosepiap-terina
	R_1 = -OH R_2 = -CH_2-CHOH-COOH	Dihidroecap-terina
4b.) Pterinas tetrahidrogenadas		
C6 o C7	R_1 = -CHOH-CHOH-CH_3 R_2 = -H	Tetrahidrop-terina
	R_1 = -CO-CHOH-CH_3 R_2 = -H	6-lactoil-tetrahidropterina

La estructura de la aloxazina, característica de las flavinas, se deriva de la substitución de dos átomos de hidrógeno en C6 y C7 del anillo pirazina por un anillo benzoide. Una de las flavinas que mejor se conocen es la riboflavina, cofactor de varias enzimas que participan en diversas reacciones de óxido-reducción.

Las pterinas son moléculas polares insolubles en solventes orgánicos; se disuelven con facilidad en agua a pH ácido o alcalino, pero tienden a autoquelarse en la neutralidad. Las pterinas en solución fluorescen cuando se les irradía con luz ultravioleta (UV) de longitud de onda larga (365 nm), sin embargo las tetrahidropterinas no fluorescen (2). La mayoría de las pterinas dan una reacción positiva a la prueba del muréxido (ver en la sección Métodos de Estudio).

A diferencia de las flavinas, las pterinas son sensibles a la oxidación con permanganato en un medio con ácido acético, pero de manera similar a las flavinas, algunas se reducen con el hidrosulfito a derivados leuco, efecto que es reversible al agitar en aire. Esta última característica pudiera resultar reminiscente del papel fisiológico que juegan las flavinas como agentes óxido-reductores y sugiere una función paralela para las pterinas; algunas pterinas están conjugadas con proteínas y funcionan como coenzimas de manera análoga a como lo hacen las flavoproteínas (1).

La biosíntesis del anillo pteridina se relaciona estrechamente con el metabolismo de las purinas ya que la guanina es el precursor directo de las pterinas; la ruta biosintética guanina ——» pterina parece ser común en el reino *Animalia*; la ruta se presenta en la figura 2. El anillo purina se abre y el C8 se elimina como formato, el cual se puede excretar como CO_2 o volver a entrar en la síntesis de las purinas. El intermediario resultante es una pirimidina hidrogenada y fosforilada; al cerrarse el anillo se transforma en una pteridina inicial no fluorescente similar a la tetrahidrobiopterina. La neopterina, con una cadena lateral D-eritro, es uno de los primeros productos estables en la transformación de purinas a pterinas. En experimentos donde se alimentan a larvas *Drosophila* con glucosa marcada en ^{14}C6 y C2, los carbonos C2 y C3 de la cadena lateral dela biopterina y las drosopterinas se originan de los carbonos C5 y C6 de la glucosa (1).

Al inyectar guanosina marcada a la pupa de la mosca *Colias eurytheme*, la marca se incorpora en la sepiapterina y sus productos de oxidación, lo que muestra además que el C6 de la cadena lateral no se adiciona posteriormente sino que se origina en el momento de la síntesis de la pterina. Además de la guanosina 5-fosfato, la treonina marcada también se incorpora en el C6 del anillo pterina en el alga *Anacystis*, lo que indica la presencia de precursores alternativos en otros organismos (1). Las pterinas oxidadas en el C6 o C7, se forman por la actividad de la xantina oxidasa; en presencia de esta enzima, la pterina se oxida a isoxantopterina (Fig. 2).

La biosíntesis del ácido fólico y sus derivados también inicia con la guanosina o la guanosina fosfato, en el proceso se genera una pterina hidrogenada la que se acopla con el ácido p-aminobenzoico, pero a diferencia de la mayoría de los microorganismos, los protoctistas que producen la malaria, sintetizan sus cofactores de folato a partir de la pterina, el ácido 4-aminobenzoico (PABA) y el glutamato, que obtienen del huésped. El crecimiento de los *plasmodia* se inhibe con sulfonamidas, que son análogos del PABA. Estos parásitos son los únicos protoctistas en donde se ha encontrado la enzima GTP ciclohidrolasa (GTPCH), la cual tiene semejanzas con la de *Escherichia coli* ya que su actividad no depende del magnesio; tiene

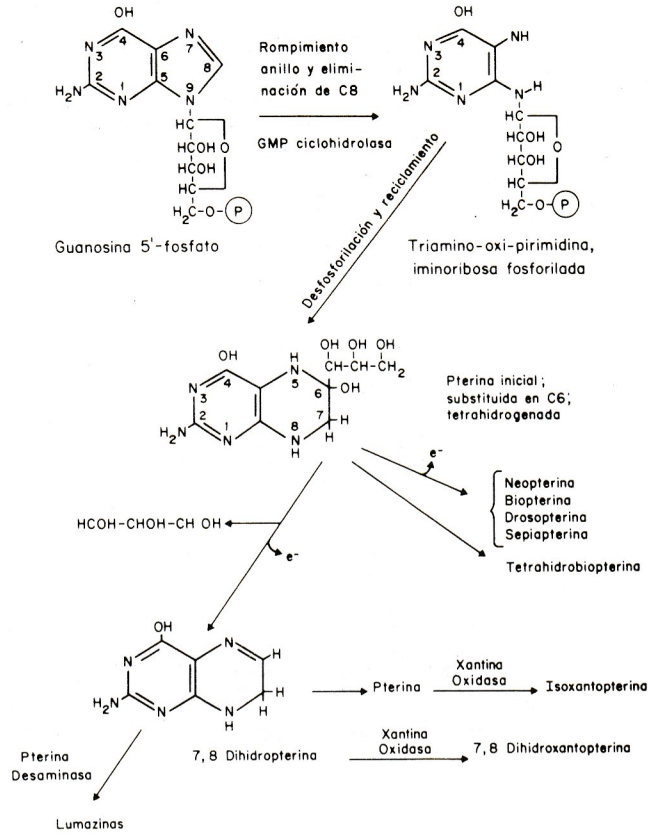

Figura 2. Biosíntesis de algunas pterinas (modificado de 1 y 3).

un peso molecular de 300 KDa, unaKm por el GTP de 54.6 μM y se inhibe con 7-metil guanosina (Ki de 4.2 μM), este último con actividad antimalárica *in vitro* (3).

Dada la importancia del papel que juegan las pterinas en el metabolismo de los seres vivos, además de su síntesis enzimática, hasta el momento ha sido posible sintetizar químicamente una gran cantidad de pterinas para, por ejemplo, aplicarse como agentes terapéuticos. La síntesis se inicia con la condensación de la 4-ol-2,5,6-tiaminopirimidina con la hidrazona acetilada de la 5-desoxi-L-arabinosa (Fig. 3); el azúcar se obtiene a partir de la L-ramnosa o directamente de la L-arabinosa (4).

FUNCION Y DISTRIBUCION. Las pterinas son compuestos orgánicos muy versátiles ya que participan en diversas reacciones dentro del organismo, e inclusive juega un papel importante en la interacción entre los componentes de un ser vivo y en interacciones intra e interespecíficas. A continuación se describen algunos ejemplos.

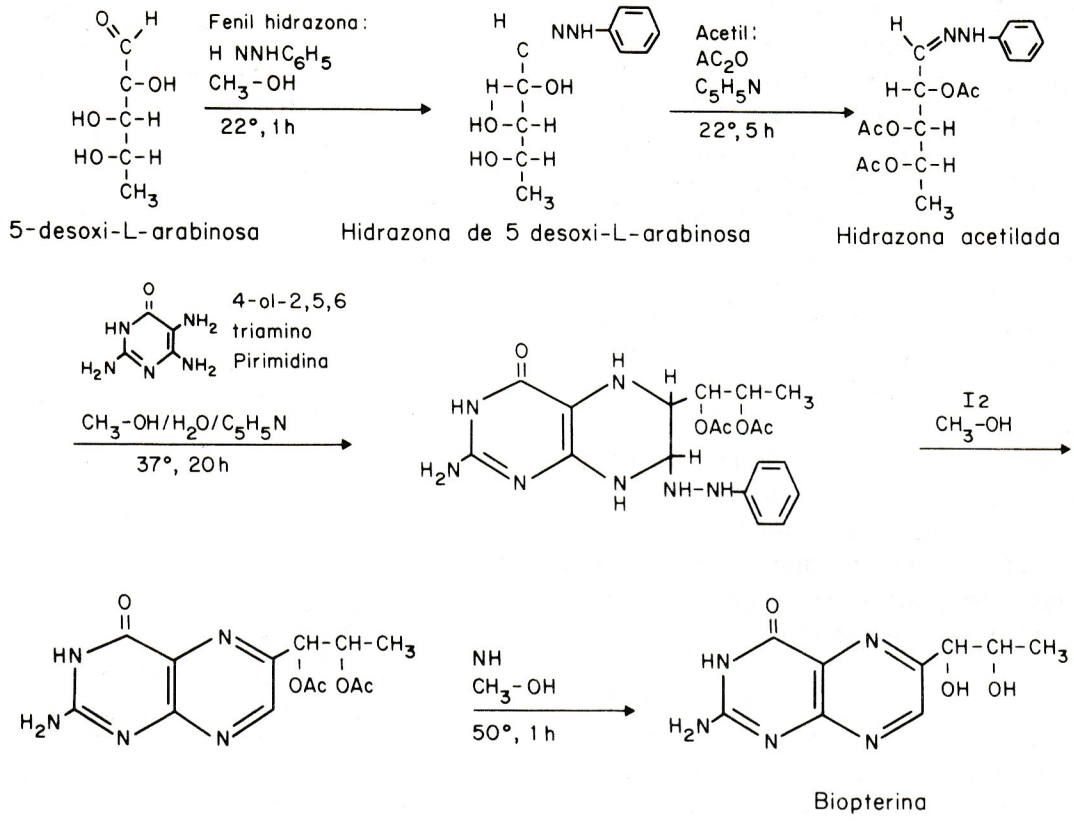

Figura 3. Síntesis química de la biopterina (tomado de 4).

COMO COFACTORES DE ENZIMAS. El ácido tetrahidrofólico, un derivado de las pterinas (Fig. 4a), es un cofactor importante de enzimas que participan en reacciones de transferencia de grupos monocarbonados, en donde el carbono que se transporta está ligado al átomo de nitrógeno N5 o N10, se representan como N^5 y N^{10} respectivamente, o a ambos (Fig. 4a), esta unidad de carbono puede existir en estados diferentes de oxidación: metilo (-CH_3), metileno (-CH_2-), formilo (-CHO), formimino (-CHNH), metenilo (-CH=) o el mas oxidado, el CO_2. A excepción del CO_2 que se transporta por la biotina, todas estas unidades de carbono se transportan por el ácido tetrahidrofólico, las que además son interconvertibles entre sí (Fig.4b). Entre las reacciones en las que participa este cofactor, algunas de las más importantes son las que corresponden a la síntesis de la metionina a partir de la homocisteína por transferencia del grupo metilo, o la incorporación en las purinas de algunos átomos de carbono que se derivan del N^5, N^{10}-metenil y el N^{10}-formil del ácido tetrahidrofólico, como el grupo metilo de la timina. Además, el ácido tetrahidrofólico también actúa como aceptor de carbonos en reacciones de degradación: de conversión de serina a glicina, o la ruptura de la histidina para generar N-formiminoglutamato (5).

COMO QUIMIOTACTICOS. La agregación de células generalmente está mediada por compuestos quimioatrayentes, a los que también se les conoce bajo el nombre de acrasinas; el AMP cíclico (AMPc) fue una de las primeras acrasinas que se identificaron, ésta induce la agregación de las células de *Dictyostelium discoideum*. Otra acrasina que se aisló de *D. lacteum* se identificó como un derivado de las pterinas (6), la que muestra una actividad alta como quimioatrayente.

EN LA RESPUESTA INMUNE. Se ha observado en experimentos *in vitro* que en los macrófagos estimulados con el sobrenadante del medio de cultivo de linfocitos T activados, la concentración de neopterina alcanza hasta 10 veces más los niveles

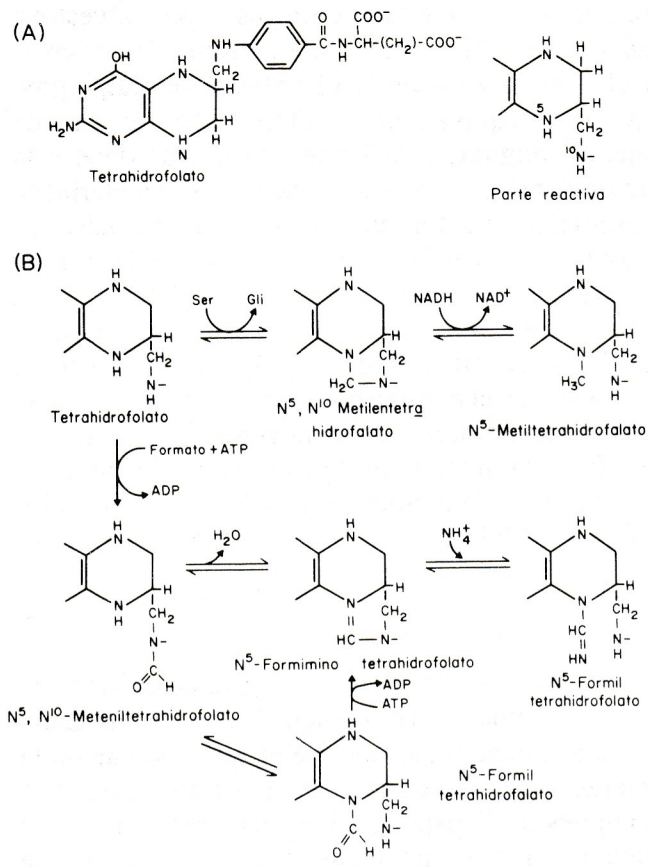

Figura 4. a) Estructura del ácido tetrahdrofólico y su parte reactiva; b) Conversión de unidades de carbono por el ácido tetrahidrofólico. (Tomado de 5).

basales presentes en células no estimuladas. Este incremento en la concentración de pterinas se acompaña de un aumento significativo en el nivel del GTP y de la actividad de la GTPCH, lo que también se observa al estimular los macrófagos con interferón y purificado (IFN-gamma), en comparación con los macrófagos no estimulados (7). La activación de la GTPCH por el IFN-gamma resulta de interés ya que a la fecha tan sólo se conocían dos enzimas que se podían activar por esta linfocina: la 2'-5' oligoadenilato sintetasa y una proteína cinasa (8). Desde el punto de vista clínico, en la actualidad se determinan los niveles de neopterinas en la sangre para detectar enfermedades con estados hiperinmunes (7).

COMO PIGMENTOS BIOLOGICOS. En los insectos las pterinas se localizan en las células epidérmicas en donde forman cristales los que dan una apariencia obscura al penetrar la luz, o tonalidades brillantes y muy vistosas al reflejarla; como resultado de la orientación del eje óptico de los cristales, la brillantez variará con el ángulo del haz luminoso incidente. Los patrones de coloración resultantes tienen importancia ecológica en cuanto a los mecanismos de reconocimiento entre individuos de la misma especie, o como protección frente a depredadores con coloraciones francamente alarmantes.

La mayoría de las pterinas se asocian con gránulos de proteína en los tejidos de los insectos, a los que se les conoce como gránulos pigmentarios. Además del pigmento y la proteína, estos gránulos contienen RNA y una determinada cantidad de fosfolípidos, lo que los hace similares a las mitocondrias en cuanto a su composición. Estos gránulos se encuentran en gran cantidad en las células pigmentarias que rodean a los lentes y a la retínula de las omatidias de los insectos. Una omatidia es la unidad del ojo compuesto en los insectos, en donde estos pigmentos pudieran funcionar como agentes que evitan la dispersiòn de la luz y como filtros, particularmente en la región del UV cercano y en el azul. Se ha demostrado una relación directa entre la actividad optomotora del insecto y la cantidad de pigmentos presentes en las omatidias, en donde las moscas mutantes con ojos blancos, sin pigmentos, no presentan reacciones optomotras y su agudeza visual es nula (1).

METODOS DE ESTUDIO

El estudio experimental de las pterinas generalmente comprende la extracción de los compuestos y su purificación. La extracción a partir de diversos tejidos de animales implica el rompimiento del tejido con homogeneizados específicos, por ejemplo tipo Potter, a 4°C en el amortiguador adecuado; para el caso de los insectos, es común homogenizar en una solución de cloroformo/metanol adicionada de NaOH 0.1N (9), o en el amortiguador de Tris-HCl 50mM, pH=8.0 (10), lo que da mejores resultados en la experiencia de los autores. La solución resultante se centrifuga para eliminar los restos celulares y el material insoluble; el sobrenadante es una fuente rica de pterinas, las que se determinan al evaluar su

fluorescencia en un espectrofluorómetro con excitación a 360 nm y emisión a 450 nm (10). La determinación química de las pterinas y otros compuestos relacionados, se realiza mediante la prueba del muréxido (11) que consiste en exponer el tejido o la solución al ácido nítrico concentrado con lo que se forma un residuo amarillo, y posteriormente al KOH al 10%, que despues de adicionar unas gotas de agua, de calentar y de evaporar, se obtiene un residuo rojo el cual se determina por colorimetría.

La separación y purificación se realiza por procedimientos convencionales, como las técnicas de cromatografía en papel Whatman No. 1,o en gel de sílice, con diferentes sistemas de solventes; esto ha permitido separar una gran cantidad de pterinas fluoscentes, a partir de los cromatogramas que se exponen a la luz UV después del corrimiento, las que se recuperan de cada mancha mediante disolución en el amortiguador apropiado. Recientemente se han aplicado con mucho éxito las técnicas de HPLC ("High Performance Liquid Chromatography"- cromatografía líquida de alta resolución) en la purificación de estos compuestos con buenos rendimientos (6). El uso de cartuchos de octadecilsilano (C_{18} Sep-Pak) (12) también ha dado muy buenos resultados en la purificación y concentración de las pterinas.

Desde el punto de vista biológico, la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, es un modelo que ha aportado mucha información en cuanto al metabolismo y genética de las pterinas. Ello se debe gracias al trabajo con las mutantes de esta mosca en donde los cambios fenotípicos al nivel de la coloración de los ojos se ha relacionado con cambios genotípicos, mutaciones, que alteran rutas metabólicas determinadas. Tal es el caso de las mutantes de ojos color de rosa("rosy") en donde se detecta, en cromatogramas bidimensionales, la mancha que corresponde a la hipoxantina en el lugar del ácido úrico presente en las cepas silvestres; además de la diferencia en los patrones de manchas, en las mutantes se desarrollan tubos de Malphighy, que es el equivalente al riñón en las moscas, de menor longitud y deformes, lo que se debe a la acumulación de hipoxantina, que es el material de excreción en las mutantes. Esta acumulación de hipoxantina se debe a una deficiencia en la síntesis de la enzima xantina deshidrogenasa (XDH), que es la que se encarga de producir el ácido úrico a partir de la hipoxantina (Fig. 5) (13). El efecto de la mutación en el gen que codifica para la XDH,que se conoce como mutación en el gen "rosy", se refleja a diferentes niveles fenotípicos, como el cambio en los patrones de pigmentos y la deformación en los tubos de Malpighy, lo que en genètica se define como efecto pleiotrópico.

CONCLUSION. El funcionamiento de los seres vivos depende de la eficiencia de una amplia gama de rutas metabólicas complejas que resultan de la interacción fisico-química de una gran variedad de compuestos. El papel que juegan las pteridinas en el metabolismo es un ejemplo claro de como se aprovecha en los seres vivos la estructura de los compuestos orgánicos para diferentes funciones: la modificación química de la estructura básica, el anillo piridina-pirazina, permitió la diversificación de sus funciones a través de la evolución sin que hubiera sido necesario el que se desarrollaran rutas metabólicas nuevas y complejas que requirieran de un aporte elevado de energía. De esta manera los derivados de las pteridinas funcionan en actividades tan variadas como cofactores de enzimas en la transferencia de grupos químicos, como agentes quimiotácticos, como componentes importantes en mecanismos de defensa, como pigmentos visuales, etc. De esta manera el funcionamiento de los organismos es más eficiente al invertir una cantidad mínima de energía en vías metabólicas comunes y funciones diversas.

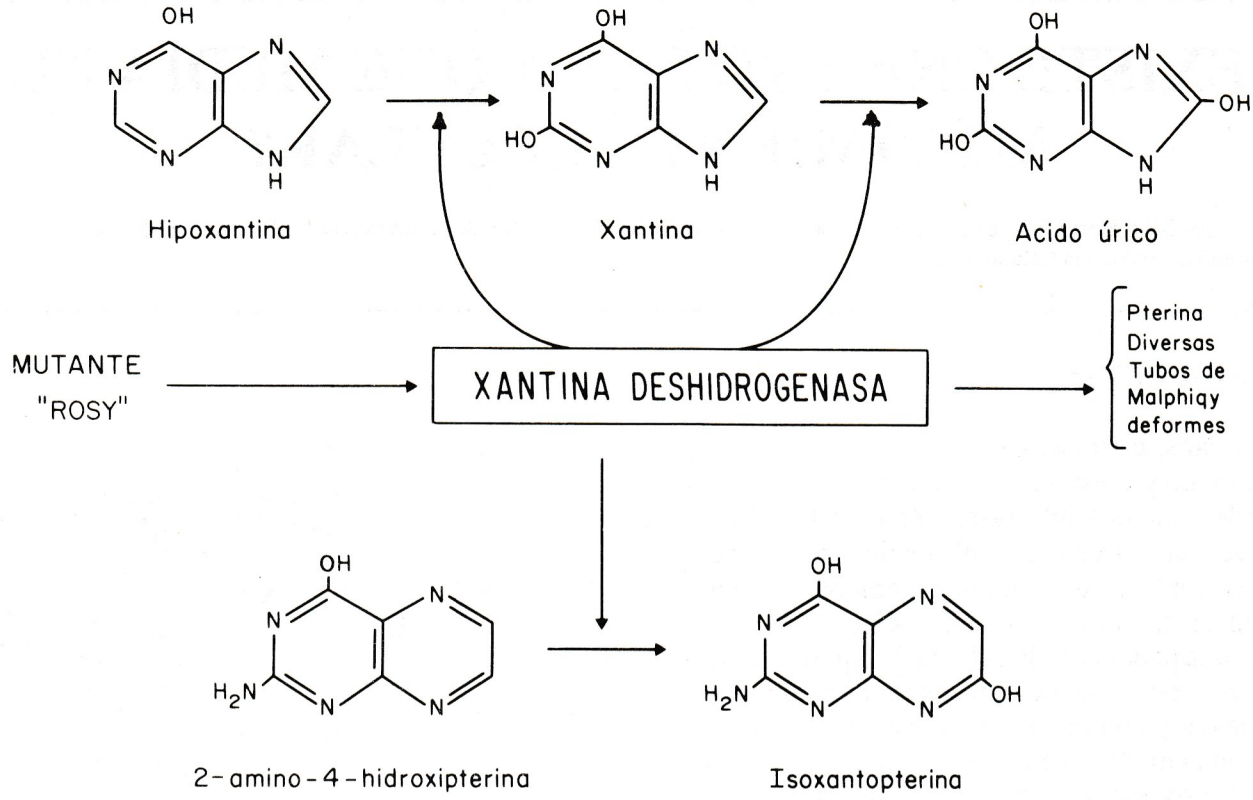

Figura 5. Actividad de la enzima xantina deshidrogenasa y efecto de la mutación en el gen "rosy". (Tomado de 1).

BIBLIOGRAFIA

1. Ziegler,I. y R.Harmsen. (1969). *The Biology of Pteridines in Insects.* Adv. Insect Physiol. *6*:139-203.

2. Fox, D.L. (1976). *Animal Biochromes and Structural Colours.* University of California Press. pp 293-300.

3. Warhurst, D.C. (1986). *Pteridine Synthesis in Malaria Parasites.* Parasitol. Today. *2*(3): 57-58.

4. Alder, C., M. Visconti, S. Datta y Curtius, H.C. (1990). *Pterine Chemistry: A Simple Synthesis of 5-Deoxy-L-[5-2H1]Arabinose and L.[3'-2H1]Biopterin.* Helvetica Chem. Acta *73*: 1058-1063.

5. Stryer,L. (198). *Biochemistry.* W.H. Freeman, NewYork. pp. 580-583.

6. Van Haastert,P.J.M., Witt de, R.J.W., Grijpma, Y. y Konijn, T.M. (1982). *Identification of a Pterin as the Acrasin of the Cellular Slime Mold Dicyostelum lacteum.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA. *79*:6270-6274.

7. Schoedon, G., Troppmair, J., Fontana, A., Huber, Ch., Curtius, H. Ch. y Niederwieser, A.. (1987). *Biosynthesis and Metabolism of Pterins in Peripheral Blood Mononuclear Cells and Leukemia Lines in Man and Mouse.* Eur. J. Biochem. *166*: 303-310.

8. Schoedon, G.,Troppmair, J., Adolf, G., Huber, C. y Niederwieser, A. (1986). *Interferon-þ Enhances Biosynthesis of Pterins in Peripheral Blood Mononuclear Cells by Induction of GTP-Cyclohydrolase I Activity.* J. Interfero Res. *6*: 697-703.

9. Lehane,M.J.y Mail, T.S.. (1985). *Determining the Age Adult Male and Female of Glosina morsitans morsitans* Using a New Technique. Ecol. Entomol. *10*: 219.224.

10. Mail, T.S., Chadwick, J. y Lehane, M:J:. (1983). *Determining the Age of Adults of Stomoxys calcitrans (L). (Diptera: Muscidae).* Bull. Ent. Res. *73*: 501-525.

11. Leclercq, J. (1950). *Occurence of Pterin Pigments in Hymenoptera.* Nature. *165*(4192): 367-368.

12. Ferre, J. y Jacobson, K.B. (1985). *Use of Reversed Phase C_{18}: Sep-Pak cartridges for the purification and concentration of Sepiapterin and other Pteridins.*

13. Hadorn, E. (1952). *Fractionating the Fruit Fly.* Sci. Am. *206*(4): 100-110.

¿EXISTE UNA PROTEINA QUE MEDIA EL MOVIMIENTO CELULAR?

Dirk Hol Soto Borja. Proyecto Académico de Licenciatura, Maestría y Doctorado en Investigación Biomédica Básica.
Instituto de Fisiología Celular, UNAM.

INTRODUCCION

Dos características de los seres vivos son: El movimiento y el estar conectados con el medio que los rodea por una interfase. Ya en 1931, Carrel propuso que las células y el medio que las rodea están en continuidad fisiológica; ambos elementos forman un todo (1). La concepción de la célula como "una pequeña bolsita llena de líquido" ha sido cambiada por una de una estructura altamente organizada y compartamentalizada, en comunicación con el medio que la rodea y en la que ocurren miles de procesos en forma ordenada y simultánea.

La capacidad de movimiento de las células les confiere a éstas una mayor probabilidad de sobrevivir; en los animales, esta capacidad celular desempeña un importantísimo papel en el desarrollo, en la respuesta inmune, en la curación de heridas, e inclusive en el cáncer.

Recientemente se han elucidado algunos de los procesos subyacentes a la locomoción celular. Se ha propuesto un mecanismo mediante el cual, una célula animal móvil internaliza partes de su membrana plasmática para después, regresarlas a la superficie mediante el proceso llamado ciclo endocítico (2,3) (Fig. 1).

En este trabajo se propone la existencia de una proteína que interviene en este mecanismo y que podría mediar, al menos en parte, el movimiento celular.

ANTECEDENTES

Es evidente que la membrana celular juega un importante papel en este fenómeno, así como también lo hace el citoesqueleto. Se discutirán algunas

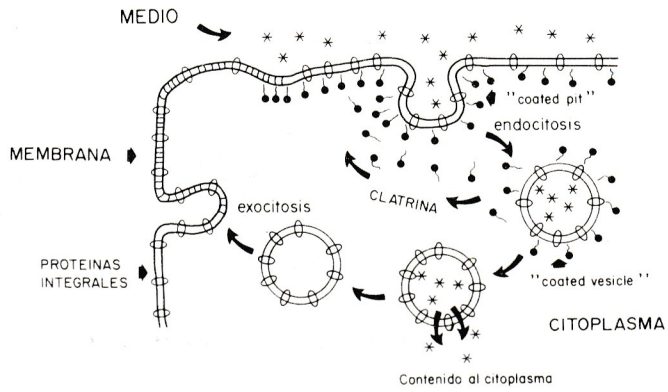

Figura 1. El ciclo endocítico, que internaliza fragmentos de membrana a la célula y luego los regresa a la superficie.

propiedades de las membranas y del citoesqueleto para después proponer una hipótesis, que relacione a ambas estructuras.

Hasta 1970 se consideraba a la membrana celular como una estructura más bien rígida. Esta concepción ha ido cambiando, y actualmente es aceptado el modelo de mosaico fluido propuesto por Singer y Nicholson en 1972 (4). Este modelo propone a la membrana como a "una disolución viscosa orientada en dos dimensiones", formada por proteínas globulares y fosfolípidos orientados (4). Las membranas son estructuras asimétricas. Una prueba que parece confirmar este modelo fue dada por Frye y Edidin en 1970 (6). Se hicieron anticuerpos contra proteínas de membrana de células humanas y de ratón, respectivamente. Se fusionaron ambas células, para formar un heterocarionte, y al poco tiempo se vio que los antígenos de superficie de las células ahora fusionadas, formaban un "mosaico" sobre la superficie del heterocarionte (6).

En cuanto a las proteínas de membrana, se sabe que constituyen aproximadamente un 50% o más de los componentes de la membrana (4). Estas proteínas desempeñan un importantísimo papel en la determinación de la estructura de las membranas, como se discutirá más adelante. Se distinguen dos tipos de proteínas membranales: Integrales y Periféricas.

Las periféricas están asociadas a la membrana por interacciones débiles, no covalentes; no están fuertemente asociadas a los lípidos de la membrana, por ejemplo el citocromo c y la espectrina (7). Las integrales constituyen un 70% o más del total de las proteínas de membrana (4). Son insolubles o forman agregados en disolventes polares o en amortiguadores polares neutros (8).

Existen diversos tipos de proteínas membranales, las que cumplen varias y distintas funciones (9). Estas presentan regiones considerables de alfa-hélices. Generalmente las proteínas integrales son de forma globular (10). Estas proteínas son ligando-específicas en su actividad, como los receptores de insulina, adrenalina, etc.

Una característica importante de estas proteínas y de la que se propone, es que presentan un efecto cuya existencia fue propuesta por Changeux et al (11) y que consiste en que una proteína integral puede existir en más de un estado conformacional, y uno de estos estados se favorece por la unión de un ligando. La proteína en su conformación nativa (no unida al ligando), está dispersa monomolecularmente en la membrana; sin embargo en la conformación promovida por la unión del ligando, la agregación de la proteína es termodinámicamente favorable (11). Estas interacciones entre las proteínas producirían alteraciones en la estructura de la membrana, que causarían una redistribución de componentes membranales y que serían debidas a la difusión de estas proteínas en la disolución viscosa y bidimensional. Esto permitiría nuevas interacciones termodinámicas entre los componentes alterados (4), y podría a su vez llevar a la formación de vesículas endocíticas, como se plantea en este trabajo. La proteína propuesta actuaría según estos principios.

En 1970 Abercrombie, Heaysman y Pegrum (12) realizaron experimentos importantes, de los que obtuvieron las siguientes observaciones: Un fibroblasto en cultivo, cuando se mueve sobre un sustrato plano y encuentra una partícula relativamente pequeña adherida a éste, generalmente "recoge" a la partícula y la transporta hacia atrás. Estas partículas, al moverse hacia atrás, están ligadas a la superficie dorsal de la células, es decir al lado expuesto al medio. De esta manera, una partícula (o partículas) viajan 14 micrómetros, en promedio, desde el extremo frontal ("leading edge") hasta el extremo posterior o urópodo ("trailing edge") de la célula en aproximadamente 8 minutos (12). Con respecto al sustrato recorre aproximadamente 10 micrómetros.

Estos investigadores propusieron que los lamelipodios formados en el extremo frontal de la célula, son el resultado de la formación de la nueva superficie celular en ese sitio, lo que produce un aumento en la cantidad de membrana tal, que el exceso de ésta empuja hacia atrás a la previamente presente, lo que produce un flujo de membrana hacia atrás en forma constante. Este flujo lleva o arrastra a las partículas encontradas en el sustrato (12). Esto está de acuerdo con lo propuesto en el modelo de mosaico fluido (4).

Una conclusión importantísima a la que llegaron, fue la de que debía existir la posibilidad de que el citoplasma contuviese al mecanismo necesario para transportar fracciones de "superficie" y tal vez material citoplasmático, en direcciones particulares. Esto determinaría donde debería ocurrir el ensamble de "superficie" (12). Ahora sabemos que ese mecanismo es el citoesqueleto y su interacción con ciertas proteínas, como se discutirá más adelante.

El modelo propuesto para el movimiento celular es el siguiente: Existe pinocitosis a todo lo largo de la superficie celular. Las vesículas pinocíticas formadas son dirigidas hacia el extremo frontal de la célula, donde se lleva a cabo la exocitosis. Este aumento en la cantidad de membrana en el extremo frontal -por la exocitosis- desplaza a la membrana previamente localizada en ese extremo, hacia atrás, en la dirección del urópodo. Si la célula está de algún modo adherida al sustrato, este flujo provocará que el resultado final sea un movimiento hacia adelante de la célula en conjunto. Es un tipo de

movimiento comparable con el de las orugas de los tractores, en el que la membrana sería precisamente la oruga, la que se desplaza hacia atrás en relación al tractor y está en contacto con el suelo, que impulsa hacia adelante a la célula con respecto al sustrato (2,3) (Fig. 2).

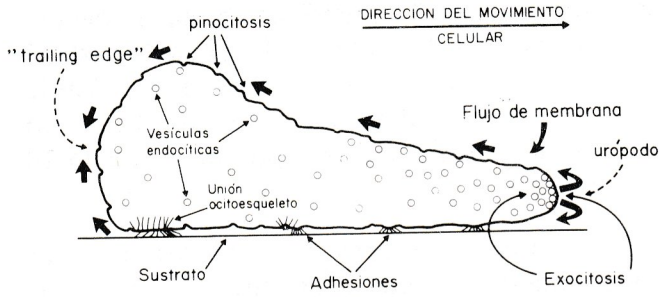

Figura 2. Modelo de movimiento celular. Exocitosis al frente produce un flujo hacia atrás, de la membrana. (Según Bretscher (2,3).

Una observación, que parece confirmar este modelo fue hecha en 1976 por Raff et al , en linfocitos, (13). Cuando los anticuerpos marcados con ferritina (que es electrodensa) se unen a proteínas membranales específicas, inducen a estas proteínas a agregarse en "manojos" ("clusters"). Estos migran rápidamente hacia un polo de la célula, con lo que se forma un casquete o "cap". Este polo en que se encontraron los casquetes, siempre es aquel que está del lado del urópodo de las células que se mueven sobre un sustrato (13). Si se utilizan anticuerpos monovalentes, es decir, anticuerpos normales o bivalentes digeridos con papaína, se observa que las proteínas membranales están distribuídas difusamente sobre la superficie celular. Otro fenómeno observado es que estas moléculas marcadas inducen pinocitosis, aún cuando hayan sido marcadas con anticuerpos monovalentes, aunque en ese caso a un grado menor del observado con anticuerpos bivalentes. Los anticuerpos monovalentes no inducen la formación de manojos ni de casquetes (13) (Fig. 3).

Por lo tanto, si hay un flujo hacia atrás de la membrana, ésta tiende a arrastrar a las proteínas no

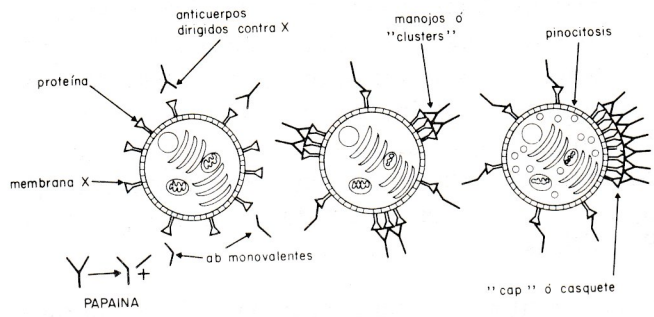

Figura 3. Formación de casquetes ("caps") y manojos ("clusters") por la adición de anticuerpos. Esto induce pinocitosis (13).

circulantes hacia el urópodo, pero su distribución difusa se mantiene por el movimiento browniano. Sin embargo, los agregados grandes de proteínas membranales -formados por los anticuerpos bivalentes, que establecen puentes cruzados entre todas las proteínas antigénicas y forman así un agregado- serán arrastrados hacia atrás formando un casquete, debido a que se precipitan en la disolución viscosa bidimensional que es la membrana.

Prácticamente todas las células eucariotas ingieren continuamente, partes de su membrana plasmática en forma de vesículas pinocíticas que después son devueltas a la superficie. Estas vesículas generalmente tienen un diámetro menor a 150 nm.

La pinocitosis comprende la fusión de regiones inicialmente separadas de membrana y ocurre cuando las dos bicapas se yuxtaponen (con lo que se forman los pozos recubiertos o "coated pits"), para después fusionarse y formar una vesícula recubierta ("coated vesicle"). El recubrimiento está compuesto de clatrina, una proteína altamente conservada en la evolución (14) (Fig. 1).

Parece probable que todas las fusiones membranales en las células, como la de endocitosis, exocitosis, fusión y división celulares, estén catalizadas por proteínas fusogénicas especializadas. Ciertas proteínas fusogénicas virales están implicadas en la entrada de algunos virus a las células que infectan, como es el caso del virus de la

influenza. En este caso el pH bajo del endosoma (al que se une una vesícula que contiene al virus y a sus receptores específicos), induce un gran cambio conformacional en la proteína fusogénica, se expone de esta manera una región hidrofóbica de la proteína que se hallaba previamente enmascarada o escondida. Esta región puede interactuar entonces con la bicapa lipídica de la membrana. Un manojo de estas regiones hidrofóbicas de las proteínas fusogénicas podría hacer que dos bicapas lipìdicas se yuxtapusieran, y podría también desestabilizar a las bicapas de tal forma, que las bicapas se fusionaran (15). Esto está de acuerdo con lo propuesto por Changeux et al (11) y Singer y Nicholson (4).

En las células eucariotas existe un transporte dirigido de vacuolas intracelulares. Las células del páncreas, que secretan insulina, presentan este fenómeno; otro ejemplo es el movimiento dirigido de vacuolas que contienen proteínas de membrana glucosiladas, entre el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi; entre las cisternas del aparato de Golgi, y entre la cisterna *trans* del aparato del Golgi y la membrana (16).

Asimismo, la mayoría de las células eucariotas transportan orgánulos a través de su citoplasma (17). Este transporte de orgánulos es fácilmente observable en las neuronas. En estas células hay un movimiento continuo de orgánulos, que transportan proteínas y lípidos, entre el cuerpo celular o soma y la terminal nerviosa o sinapsis a un ritmo de aproximadamente 5 micrómetros por segundo. A este fenómeno se le llama transporte axónico rápido (18).

En 1983, Bernier-Valentin et al (19) publicaron sus observaciones relativas a la existencia de una interacción entre membranas, membranas plasmática y mitocondrial de hígado y de vesículas secretorias de la médula adrenal y la tubulina. Los resultados de sus experimentos indican que las membranas especializadas en distintas funciones celulares poseen una gran capacidad y una alta afinidad para unirse a la tubulina. Postularon que una especie molecular de la membrana podría unirse o promover la unión de muchas moléculas de tubulina (19).

En 1985, Vale et al (20) publicaron que en el axón gigante del calamar, y en presencia de ATP, todos los orgánulos se mueven a lo largo de filamentos de transporte a un ritmo de 0.2 a 2.2 micrómetros por segundo. Esto sugería que un tipo de motor celular proveía la energía necesaria para este transporte (probablemente el mismo que menciona Abercrombie et al (12)). Los orgánulos se pueden unir a y moverse a lo largo de, más de un filamento de transporte a la vez, lo que sugería entonces que los orgánulos tenían múltiples sitios de unión con este motor (20), lo que está de acuerdo con la evidencia de Bernier-Valentin et al (19). Un poco despuès, Vale et al (21) publicaron que virtualmente todos los filamentos de transporte contienen tubulina. Concluían que un microtúbulo podría servir como sustrato para el movimiento de orgánulos, y sugirieron que algún tipo de interacción entre orgánulos y microtúbulos es la base del transporte axónico rápido (21).

Pasado poco tiempo, los mismos Vale et al (22) desarrollaron un sistema reconstituido para examinar el movimiento dirigido de los orgánulos a lo largo de microtúbulos purificados. De estos estudios se logró la identificación de una proteína a la que se llamó cinesina ("kinesin") en 1985 (22).

La cinesina es una enzima mecanoquímica con un PM de 600 a 700 ^{Kdal}. Se une a los microtúbulos y tiene la capacidad de generar movimiento dependiente de microtúbulos. *in vitro*. Esta proteína es una ATPasa activada por microtúbulos. La cinesina es un translocador unidireccional que genera movimiento de los orgánulos en una sola dirección a lo largo de un microtúbulo (23). La cinesina es ubicua en una gran variedad de células eucariotas, lo que sugiere que realiza una importante función biológica. La fuerza que ejerce la cinesina sobre el microtúbulo es transmitida a la membrana y entonces se produce una extensión de ésta (24) (Fig. 4).

En 1988 se aisló una MAP ("microtubule-associated protein": Proteína asociada a microtúbulo) de alto peso molecular, que es responsable del transporte intracelular en la dirección opuesta al efectuado por la cinesina a lo largo del microtúbulo, es decir, del cuerpo al extremo celular. Se le ha llamado dineína citoplasmática (25). Luego, la

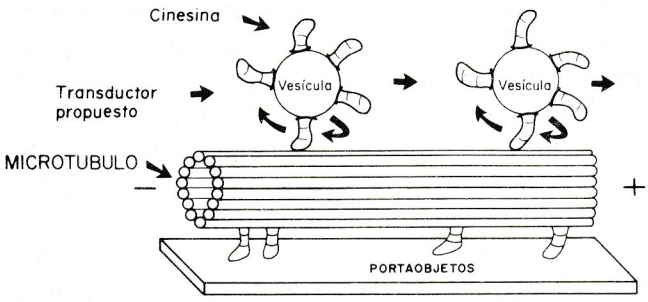

Figura 4. Diagrama que describe el movimiento de vesículas a lo largo de microtúbulos, mediado por la cinesina (Según Vale (24).

movilidad de los orgánulos dependería de la formación de un complejo que consistiría en un microtúbulo, el orgánulo o la vacuola y una cinesina o dineína citoplasmática. Estas últimas serían las responsables de efectuar el movimiento del orgánulo sobre el microtúbulo. La proteína que se propone tendría sitios de unión reversibles a cinesina o dineína citoplasmática.

HIPOTESIS

Existe al menos una proteína que está involucrada en el movimiento celular. Esta proteína tendría las siguientes características: Ser una proteína integral de membrana, estar presente en al menos una de las estirpes celulares que presenten movimiento; tendría varias subunidades, y presentaría una cinética alostérica en su unión reversible a más de un sustrato, debido a que debería tener más de un sitio de reconocimiento específico, entre ellos uno específico al citoesqueleto. Debería parecerse, al menos en parte, a alguna de las proteínas fusogénicas de los virus (15), por lo tanto sería una proteína fusogénica. Debería estar presente, al menos, en la membrana citoplasmática así como en las membranas de las vacuolas pinocíticas y debería haber una mayor concentración de ella en el extremo frontal de la célula en los lamelipodios.

El mecanismo de acción sería el siguiente: La proteína se encuentra difusa por toda la membrana, en su estado o conformación nativa. Se supondría al observaron mayor pinocitosis con los agregados que esta proteína tiende a asociarse con otras similares a ella, de forma espontánea, es decir, que tendría una afinidad por ella misma, afinidad que en presencia de algún efector (por ej. AMPc o Ca^{+2}, etc) se incrementaría en una forma alostérica. Entonces formaría manojos (ya Raff (13) observó que los agregados se pinocitan a un ritmo mayor que las proteínas difusas), lo que alteraría la conformación de la membrana.

En presencia de algún efector, para el que tendría un sitio de reconocimiento específico, la proteína cambiaría su conformación, de manera que fuera más afín por ella misma y por la dineína citoplasmática o la cinesina. Al ser más afín por ella misma se agregaría, cambiaría la forma de la membrana, la desestabilizaría y produciría los efectos discutidos previamente (4, 11, 15). Tal vez Raff et producidos por los anticuerpos, porque en la red de antígenos-anticuerpos concentró a estas proteínas hipotéticas. Entonces se produciría una vesícula pinocítica; al mismo tiempo, al ser más afín por la cinesina o dineína citoplásmica, se uniría más fácilmente a los microtúbulos, que la llevarían hasta el extremo frontal de la célula. El efector podría ser alguna señal interna o extracelular; se ha observado que el TPA (tetradecanoíl-forbol-acetato,promotor de tumores), puede inducir a los fibroblastos a formar acúmulos largos y estables, acompañados frecuentemente de la translocación del cuerpo celular (26). Se sabe que el TPA es un activador específico de la proteíncinasa C. Tal vez la fosforilación de la proteína propuesta tuviera algo que ver. La formación de pseudópodos en muchos tipos celulares puede ser inducida por factores solubles o unidos a algún sustrato. Estos factores podrían actuar en los receptores membranales correspondientes. De hecho, las células reaccionan ante la presencia de gradientes de concentración (gradientes quimiotácticos), de gradientes de adhesividad del sustrato (gradientes haptotácticos), que determinarían la fuerza de la adhesión de los pseudópodos al substrato. Inclusive las uniones previas de los pseudópodos al sustrato pueden actuar o servir como señales inductoras de la formación de nuevas uniones pseudópodo-sustrato en ese sitio. De hecho, algunas células hasta son capaces de moverse sobre la trayectoria de otras células (26).

Se ha observado que un fibroblasto en movimiento emite pseudópodos en todas las direcciones, pero sólo los que están en direcciones determinadas logran adherirse al sustrato (2). Esto señalaría, la sensibilidad de la proteína propuesta ante alguna señal extracelular (ver 26). Otra señal, como ya se dijo, podría ser el AMPc; las amibas (al menos algunas especies de Acraciales) tienden a agregarse en presencia del AMPc.

Entonces, el mecanismo sería el siguiente: Alguna señal específica induce a la proteína hipotética a cambiar de conformación, resultando así más afín por sí misma. Al ser más afín por sí misma tendería a formar agregados, lo que desestabilizaría a la membrana y produciría una serie de efectos que darían como resultado la formación de vesículas. La proteína hipotética en esta conformación debería ser asimismo más afín por la cinesina o dineína citoplasmática. De esta manera sería más fácil que interactuara con el citoesqueleto. Al interactuar con el citoesqueleto por medio de una MAP, sería transportada al frente de la célula. Al llegar a ese sitio se produciría un aumento tal en la cantidad de membrana, que causaría que la membrana previamente presente se desplazase hacia atrás y provocara un flujo neto de membrana en la dirección del urópodo. Si la célula estuviera de alguna manera adherida al sustrato en algunos puntos (adhesiones focales) y si esta adherencia fuese reversible, el flujo hacia atrás de la membrana provocaría un movimiento global de la célula hacia adelante (como en un tractor) (Fig. 5).

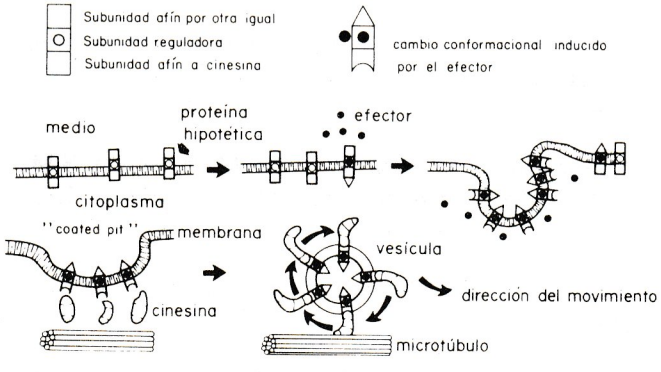

Figura 5. Modelo propuesto para una proteína hipotética que medie el movimiento celular. Sigue ésta una cinética alostérica.

A continuación se describen los procedimientos que permitieron investigar la existencia de la proteína hipotética propuesta.

Experimentos propuestos:

1. Obtener un cultivo de fibroblastos, debido a que son móviles.
2. Aislar cinesina y dineína citoplásmica a partir de fibroblastos, o de axón gigante de calamar. Esto con el fin de correrlas en una columna de afinidad con un extracto de los fibroblastos, para ver si hay algún factor que se les una.
3. Del cultivo de fibroblastos, aislar a los que con seguridad se hayan movido.
4. Fraccionar a esos fibroblastos por medio de centrifugación, para obtener la parte correspondiente a la membrana (o membranas), que es en donde esperamos encontrar a la proteína.
5. Tratar de fraccionar, a su vez, a las membranas.
6. Correr estas fracciones membranales en una columna de afinidad con la cinesina o dineína citoplásmica, como se dijo en el paso 2; se esperaría que la proteína buscada (que debería estar en el extracto membranal) se uniera a las MAPs, debido a que según el modelo propuesto debería tener afinidad por éstas. En la columna se deberían agregar disoluciones ricas en ATP y microtúbulos, debido a que probablemente sean éstos necesarios para la acción en conjunto del complejo membrana-MAP-microtúbulo hipotético. La cinesina o dineína citoplásmica podrían estar marcadas previamente con algún anticuerpo, para su fácil identificación.
7. Comprobar si es que existe algún tipo de unión entre alguna parte de la fracción membranal y la cinesina o la otra MAP, y si la hubiese, aislar el complejo formado, quitar a las MAPs (por extracción, por ejemplo), precipitar la fracción membranal de interés, y purificar a la proteína(s) que se hubiera(n) unido a las MAPs por el método de Cuatrecasas (27).
8. Aislar a la proteína fusogénica del virus de la influenza (15) y hacer anticuerpos contra ella. Esto debido a que se esperaría que todas las proteínas fusogénicas se pareciesen, al menos en parte, debido a un probable origen evolutivo común.
9. Correr estos anticuerpos en otra columna de afinidad, con el extracto membranal obtenido en el paso 4. Esto debido a que, como se espera que las

proteínas fusogénicas se parezcan al menos en parte, tal vez un anticuerpo dirigido contra la proteína del virus reconociese algun región de la proteína hipotética. Los anticuerpos tendrían que estar marcados, por ejemplo con fluoresceína.

10. En caso de que hubiera un reconocimiento, se procedería a hacer lo mismo que en 7, es decir, tratar de aislar a la proteína.

11. También se podrían hacer anticuerpos fluorescentes contra la cinesina, y agregarlos a un sistema reconstituyendo de citoplasma. Se vería si se unen a la cinesina, y en caso afirmativo, se vería si también se unen a la membrana. En caso de que sí se formara este complejo ternario, se harían otros anticuerpos (marcados) contra ese complejo para precipitarlo; luego se trataría de aislar a la proteína hipotética; esto como otro control.

12. Otra prueba podría ser: hacer anticuerpos marcados contra la membrana de una célula no móvil, y luego agregar todos esos anticuerpos a una solución que contenga membrana de una célula muy móvil. Se esperaría que algunos anticuerpos se "pegaran" a la membrana de la célula móvil. Estos estarían marcando aquellas proteínas que son comunes a ambas células. Se tratarían de aislar aquellas partes no marcadas, en las que se supone debería estar la proteína en cuestión (que debe estar en la célula muy móvil y no en la célula inmóvil). Las partes no marcadas podrían ser sometidas a un análisis como los que se han expuesto anteriormente.

CONCLUSIONES:

Este es un campo casi desconocido. Habría que probar la posible existencia de una proteína involucrada en el movimiento celular. Después, en caso de que se probara su existencia, habría que estudiar cómo se regula, y también habría que estudiar la dinámica del citoesqueleto de células móviles comparándola con aquella de células no móviles. El conocimiento de alguna proteína como la propuesta nos ayudaría a elucidar el mecanismo del movimiento celular y sus amplísimas consecuencias.

BIBLIOGRAFIA

1. Carrel, A. (1931). *The new citology.* Science *73*, 297-303.

2. Bretscher, M. (1987). *How animal cells move. Sci. Am.* 257 *(6), 44-50.*

3. Bretscher, M. (1984). *Endocytosis: relation to capping and cell locomotion.* Science 224, 681-685.

4. Singer, S.J. y Nicholson, G.L. (1972). *The fluid mosaic model of the structure of the cell membrane.* Science 175, 720-731.

5. Rothman, J.E. y Lenard,J. (1977). *Membrane assymetry.* Science *195*, 743-753.

6. Frye, C.D.y Edidin, M. (1970). *The rapid intermixing of cell-surface antigens after formation of mouse-human heterokaryons.* J. Cell Sci. *7*, 319-335.

7. Marchesi, V.T.y Steers, E. (1968). *Selective solubilization of a protein component of the red-cell membrane.* Science *159*, 203,204.

8. Richardson, S.H., Hultin, H.G. y Green, D.E. (1963). *Structural proteins of membrane systems.* Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. *50*, 821-877.

9. Haldar, D. et al. (1966). *Biogenesis of mitochondria.* Nature *211*, 9-12.

10. Lenard, J. y Singer, S.J. (1966). *Protein conformation in cell membrane preparations as studied by optical rotatory dispersion and circular dichroism.* Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. *56*, 1828-1835.

11. Changeux, J.P. et al. (1967). *On the cooperativity of biological membranes.* Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. *65*, 721-728.

12. Abercrombie, M., Heaysman, J.E.M. y Pegrum, S.M. (1970). *The locomotion of fibroblasts in culture.* Exp. Cell. Res. *62*, 389-398.

13. Raff, M. (1976). *Cell-Surface Immunology.* Sci. Am. 234 (5), 30-39.

14. Dautry-Varsat, A. y Lodish,H. (1984). *How receptors bring proteins and particles into cells.* Sci. Am. *250* (5), 48-54.

15. Gething, M.J. et al. (1986). *Studies on the mechanisms of membrane fusion.* J. Cell. Biol. *102*, 11-23.

16. Rothman, J.E. (1985). *The compartmental organization of the Golgi apparatus.* Sci. Am. *253* (3), 84-95.

17. Schliwa, E. (1984). *Mechanisms of intracellular organelle transport.* En Cell Muscle Motility, Vol. 5. J.W. Shaw, ed. Plenum, N.Y. 1-81.

18. Grafstein, B. y Forman, D.S. (1980). *Intracellular transport in neurons.* Physiol. Rev. *60:* 1167-1283.

19. Bernier-Valentin, F. et al. (1985). *Evidence for tubulin binding sites on cellular membranes: Plasma membrane, mitochondrial membranes and secretory granule membranes.* J. Cell Biol. *97*, 209-216.

20. Vale, R.D., et al. (1985). *Organelle, bead and microtubule translocations promoted by soluble factors from the squid giant axon.* Cell *40*, 559-569.

21. Schnapp, B., Vale, R.D. et al. (1985). *Single microtubules from squid axoplasm support bidirectional movements of organelles.* Cell. *40*,455-462.

22. Vale, R.D. et al. (1985). *Identification of a novel force-generating protein (kinesin) involved in microtubule based* motility. Cell *41*, 39-50.

23. Vale, R.D. et al. (1985). *Different axoplasmic proteins generate movement in opposite directions along microtubules* in vitro. Cell *43*, 623-632.

24. Vale, R.D. y Hotani, H. (1988). *Formation of membrane networks in vitro by kinesin-driven microtubule movement* J. Cell Biol. *107*, 2231-2241.

25. Vallee, R.B. et al. (1988). *Microtubule-associated protein I.C. from brain is a two-headed cytosolic dynein.* Nature *332*, 561-563.

26. Vasiliev, J.M. (1987). *Actin cortex and microtubular system in morphogenesis.* J. Cell Sci. *Suppl.* 8, 1-18.

27. Cuatrecasas, P. (1972). *Isolation of the insulin receptor of liver and fat cell membranes.* Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. *69*, 318-322.

DON ALBERTO SOLS

Presentación.

A mediados del mes de Agosto de 1989 recibimos la infausta noticia de la muerte del bioquímico español, profesor Alberto Sols. El Doctor Sols fue un investigador de reconocido prestigio internacional. Por ejemplo, sus hallazgos sobre la glucoquinasa hepática contribuyeron al mejor conocimiento del metabolismo de los carbohidratos, especialmente en los mamíferos, y fueron incorporados de inmediato en los libros de texto de la materia. Don Alberto Sols fue una figura señera de la ciencia y de la investigación bioquímica en España y fue un dilecto amigo de muchos bioquímicos mexicanos quienes sentimos su partida.

Don Alberto conoció del BEB y nos envió contribuciones que publicamos con gusto en su oportunidad. El Comité Editorial del BEB decidió honrar la memoria del maestro y del amigo publicando la minuta, preparada por él mismo, del último curso que tuvimos el placer de vivir con él, en el viejo Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. Los que asistimos al curso recordamos sus genuinas inquietudes, los que lo hicieron tienen oportunidad de pensar y repensar las incisivas e inquisitivas frases de Don Alberto Sols.

EL MÉTODO CIENTÍFICO EN LAS CIENCIAS BIOMÉDICAS

curso universitario de la Fundación Juan March,
Noviembre 1979

por el Prof. Alberto Sols

I - EL ARTE DE INVESTIGAR

"I have been speculating last night *WHAT MAKES A MAN A DISCOVERER OF UNDISCOVERED THINGS*; and a most perplexing problem it is. Many men who are very clever -much cleverer than the discoverers- never originate anything. As far as I can conjecture *THE ART CONSISTS IN HABITUALLY SEARCHING FOR THE CAUSES AND MEANING OF EVERYTHING WHICH OCCURS...*"

(Darwin, 1871 -carta a su hijo Horace)

1. *Introducción*

El método científico en la teoría y en la práctica:
filosofía de la investigación y vida real de los investigadores
Aclaración previa: investigar es descubrir, no publicar trabajos

2. *Vocación, profesión y ocasión en investigación*

¿Quien es investigador?
Curiosidad científica deportiva.
Otras cualidades favorables
Etapas en la formación de un científico

3. *Creatividad en Ciencia*

Ingredientes
El arte del pensamiento creador
El ambiente... o microambiente
Las interferencias
La historia de la muerte del Gallo Robin

4. *Investigar... ¿qué? Elección de tema(s)*

El arte de lo soluble ¿Hojas individuales o anzuelo grande?
Modas y modelos. Relevancia intrínseca.
¿Con quién? Colaboración vertical y horizontal
... y en qué material?
Del cómo se tratará en la clase siguiente

"mi fácil éxito comprueba una vez mas que las ideas no se muestran fecundas con quien las sugiere o las aplica por primera vez, sino con los tenaces que las sienten con vehemencia y en cuya virtualidad ponen toda su fé y todo su amor. Bajo este aspecto, bien puede afirmarse que las conquistas científicas son creaciones de la voluntad y ofrenda de la pasión. Consciente de haber encontrado una dirección fecunda, [l]a investigación de las neuronas, en su "año cumbre", 1888, procuré aprovecharme de ella, consagrándome al trabajo, no ya con ahinco, sino con furia. Al compás de los nuevos hechos aparecidos en mis preparaciones, las ideas bullían y se atropellaban en mi espíritu".

(Cajal, Recuerdos de mi vida.)

EL MÉTODO CIENTÍFICO EN LAS CIENCIAS BIOMÉDICAS

curso universitario de la Fundación Juan March,
Noviembre 1979

por el Prof. Alberto Sols.

II - EL PROCESO DE LA INVESTIGACION

1. *Estrategia y táctica experimental*

Plantear buenas preguntas.
La ayuda de la teleología (de Darwin a Monod).
Planteamiento a largo o corto plazo.
Tesis, ayudas de investigación, grandes objetivos.
Experimentación → resultados → crítica → replanteamiento... conclusiones.
Cuidado con el prejuzgar o pedir ciertos resultados.
La cuchilla de Occam: Pluralitas non est ponendas sine necessitate.
La otra cara de la medalla: la improgramabilidad de lo realmente desconocido.
El instinto en la investigación.
El arte de nadar... y guardar la ropa. No añadir confusión a la complejidad.
Las posibilidades de trucar.
El azar en la investigación. La "serendipidad".

2. *Hipótesis y método deductivo*

El método de las múltiples hipótesis de trabajo.
La lógica al plantear: experimentos cruciales.
La lógica al concluir: lo seguro es eliminar.

3. *La crítica a lo largo de la investigación*

Reconsideración del problema y su planteamiento.
Métodos y materiales
¿Será bastante lo hecho? Tratamientos estadísticos
y "la magia de los números". Precisión resultados.
Post hoc, ergo propter hoc? "Hechos" y artefactos.
Hacer de "abogado del diablo".
El "doble ciego" y el cerebro como órgano de supervivencia.
Censura, con rebaja, de las conclusiones.
Y que duren. ("Que los resultados den resultado".)

EL MÉTODO CIENTÍFICO EN LAS CIENCIAS BIOMÉDICAS

curso universitario de la Fundación Juan March,
Noviembre 1979

por el Prof. Alberto Sols

III - PUBLICACIONES Y PRESENTACION

1. *Información y literatura científica*

La explosión de la información. ("Publica o perece")
Estamos desbordados: espabilarse o hundirse.
Objetivos del uso de la literatura científica:
investigación, docencia superior, profesión actualizada.
Localización de la información.
De las revistas originales a los servicios computerizados
... y "los colegios invisibles".
Evaluación de trabajos.
Reglas prácticas para distinguir el oro del oropel.
Utilización de la información.
La revolución del xerocopiado... selectivo.

2. *Publicación de resultados*

Necesidad y condiciones.
Las 5 cuestiones capitales:
qué, cuándo, dónde, cómo, quienes.
Redacción del manuscrito:
materiales, médios, versiones.
Publicación.

3. *Presentación de resultados*

Reuniones científicas y sus clases.
Planteamiento de una comunicación. Resumen.
Presentación convencional ("oral")
y diapositivas (como prepararlas y como usarlas).
Presentación en paneles ("posters").
El buen congresista.

EL MÉTODO CIENTÍFICO EN LAS CIENCIAS BIOMÉDICAS

curso universitario de la Fundación Juan March,
Noviembre 1979

por el Prof. Alberto Sols

IV - ETICA CIENTIFICA

1. *Etica básica de los científicos.*

En la comunidad internacional y en el ámbito local.
Etica y etiqueta en las publicaciones.
"El pecado imperdonable": la falsificación de resultados.
Los claroscuros paracientíficos.
Las percepciones "extrasensoriales".
Mitologías terapéuticas pseudocientíficas.
Presuntas bases moleculares de la memoria.
Las fantasías de las vidas extraterrestres.

2. *Responsabilidad social de los científicos*

Relevancia.
Problemas éticos derivados del progreso de las ciencias biomédicas:
Control población.
Aborto terapéutico.
Eutanasia.
Eugenesia.
Ingeniería fenotípica.
Ingeniería genética.
Guerra biológica.

3. *La evolución de la moral a consecuencia del progreso científico.*

¿Hacia una "bioética" ?

DEL BUEN DECIR... (2)

1. CINASAS. (enzimas que catalizan la transferencia de un grupo fosforilo del ATP, o de otros nucleósidos trifosfatados, a otro compuesto). Del griego *kinein,* mover. Por analogía con cinética, cine, cariocinesis, es preferible utilizar cinasas en lugar de "quinasas".

2. CULTIVAR. Este verbo en español es transitivo, mientras que en inglés, *to grow,* puede ser transitivo e intransitivo. La acepción que nos interesa (sembrar yhacer producir, en materiales apropiados, microorganismos) se traduce frecuentemente como *crecer* (que en español es verbo intransitivo). Hablemos de cultivar microorganismos en lugar de "crecer" microorganismos.

3.DESHIDROGENASA, ,DESOXIRRIBONUCLEICO. Del latín *das* ', preposiciòn inseparable que denota negación o inversión del significado (desconfiar, deshacer). En inglés es mas comun utilizar ***de-*** (deshydrogenase, deoxycholate), por lo que en español debe decirse deshidrogenasa, desoxicolato, etc.

4: EUCARIOTO. Se trata de un neologismo inglés (**eukaryote** o***eucaryote,*** acuñado en 1943 a partir de *eu* + *kary* + *ote,* o sea ***eu*** = verdadero + *kary* o *cary* de *karyon* = nuez, núcleo y *ote* = la terminación de *zygote*). Por lo tanto, proponemos un neologismo español equivalente, pero con la terminación de *cigoto*. De ahí, *eucarioto*. Frecuentemente se dice y escribe "eucarionte". Sin embargo, *karyon* es palabra neutra en griego y por lo tanto, tiende a perder la *n* final en sus derivados (cariocinesis, cariología, cariosoma, cariolinfa, cariotipo). Todo lo anterior es válido para *PROCARIOTO* (neologismo inglés acuñado en 1963).

5. EPITOPO. Neologismo inglés reciente, utilizado para denotar un determinante antigénico. Proviene del griego*epi* = sobre + *topos* = lugar. Epítopo debe sustituir a"epítope".

NOTA: Aparecerá siempre en primer lugar el uso correcto de una palabra en mayúsculas, y el uso incorrecto actual entrecomillado. La correspondencia puede ser dirigida a: COMISION DE DEFENSA DEL LENGUAJE BIOQUIMICO; SOCIEDAD MEXICANA DE BIOQUIMICA; APDO. POSTAL 70-600; 04510 MEXICO, D.F.

INDICE GENERAL ANUAL DEL BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA

AUTORES DE EDITORIALES

Fernandez Gavarron, F. (1989). *Los cursos cortos de bioquímica especializada. 8* (3), 41-43.

Hansberg, W., Hernández, A. (1989). *Sobre el lenguaje bioquímico. 8* (1), 1-3.

Liras, A. (1989). *Método científico y la docencia de la bioquímica. 8* (2), 25-27.

Piña Garza, E. (1989). *Actitudes y enseñanza en medicina. 8* (4), 65-67.

AUTORES DE ARTICULOS

Camín Cardín V. y Arredondo, Peter, R. (1989). *Pterinas: una familia química ubícua en los seres vivos. 8* (4), 69-75.

Delgadillo Reynoso, M.G. (1989). *El análisis estructural del gen μEGF en el erizo de mar aporta nuevos datos que apoyan la hipótesis que relaciona a los equinodermos con los cordados. 8* (1), 11-18.

Espinosa, E., Nurko, E., Orozco, M.E.y Garrés, A. (1989). *Enzimas lipolíticas de origen microbiano: propiedades y Usos. 8* (1), 3-10.

Gómez Lojero, C. (1989). *Fotosíntesis en Arqueobacterias. 8* (2), 32-37.

Peña Valdivia, C.B.y Lotina Hennsen, B. (1989) *H^+-ATPasa (CF_0-CF_1) de cloroplastos. 8* (3), 52.61.

Schwartz, R., Rosas, R., Farrés, A., Paredes, L. y Sánchez, S. *Producción microbiana de carotenoides y perspectivas de su utilización. 8* (3), 44-51.

Soto Borja, D.H. (1989). *¿Existe una proteína que media el movimiento celular? 8* (4), 76-83.

Uribe, S. (1989). *¿Hay enzimas solubles? 8* (2), 28-32.

AUTORES DE OTRAS COMUNICACIONES

Arredondo Peter, R. y Pedroza Jurado, E. (1989). Comentarista de: *Nuevos métodos para marcar segmentos de polinucleótidos o genes específicos* Jablonski, E., Moomaw, E.W., Tullis, R.H. y Ruth, J.L. *8* (1), 19-20.

Arredondo Peter, R. (1989). Comentarista de: *Cinco Preguntas sobre biología celular*. León Cázares, J.M. *8* (1), 21-22.

Carvajal Sandoval, G. (1989). Traductor de: *El hombre de seis millones de dólares*. Morowitz, H.J. *8* (2), 38-39.

Carvajal Sandoval, G. (1989). Comentarista de: *Rompimiento del DNA, catalizado por la ribozima de Tetrahymena*. Herschlags, D. y Cech,, T.R. *8* (3), 62.

Comisión de Defensa del Lenguaje Bioquímico. Sociedad Mexicana de Bioquímica. (1989). *Del Buen Decir...1. 8* (1), 20-21.

Comisión de Defensa del Lenguaje Bioquímico. Sociedad Mexicana de Bioquímica. (1989). *Del Buen Decir...2.* *8* (4), 87-88.

Comité Editorial de BEB. (1989). *Don Alberto Sols, Presentación. 8* (4), 83-85.

TITULOS DE EDITORIALES

Actitudes y enseñanza en medicina. Piña Garza, E. *8* (4), 65-67, (1989).

Los cursos de bioquímica especializada. Fernández Gavarrón, F. *8* (3). 41-43, (1989).

Método científico y la docencia de la bioquímica. Liras, A. *8* (2), 25-27, (1989).

Sobre el lenguaje bioquímico. Hansberg, W., Hernández, H. y Huberman, A. *8* (1,), 1-3, (1989).

TITULOS DE ARTICULOS

El análisis estructural del gen μEGF en el erizo de mar aporta nuevos datos que apoyan la hipóteis que relaciona a los equinodermos con los cordados. Delgadillo Reynoso, M.G. *8* (1), 11-18, (1989).

Enzimas lipolíticas de origen microbiano: Propiedades y usos. Espinoza, E., Nurko, E., Orozco, M.E.y Farrés, A. *8* (1), 3-10, (1989).

¿Existe una proteína que media el movimiento celular? Soto Borja, D.H. 8 (4), 76-83, (1989).

Fotosíntesis en Arqueobacterias. Gómez Lojero, C. *8* (2), 32-37, (1989).

H^+-ATPasa (CF_0-CF_1) de cloroplastos. Peña Valdivia, C.B. y Lotina Hennsen, B. *8* (3), 52-61, (1989).

¿Hay enzimas solubles? Uribe, S. *8* (2), 28-32, (1989).

Producción microbiana de carotenoides y perspectivas de su utilización. Schwartz, R., Rosas, R., Farrés, A., Paredes, L. y Sánchez, S. *8* (3), 44-51, (1989).

Pterinas: Una familia química ubícua en los seres vivos. Camín Cardín, V. y Arredondo Peter, R. *8* (4), 69-75, (1989).

TITULOS DE OTRAS COMUNICACIONES

Comentario de : Cinco preguntas sobre biología celuar. León Cázares, J.M. -Arredondo Peter, R. (comentarista), *8* (1), 21. (1989).

Del Buen Decir....(1). Comisión de Defensadel Lenguaje Bioquímico. Sociedad Mexicana de Bioquímica. *8* (1), 20-21, (1989).

Del Buen Decir... (2). Comisión de Defensa delLenguaje Bioquímico. Sociedad Mexicana de Bioquímica. *8* (4), 87-88, (1989).

Don Alberto Sols, Presentación. Comité Editorial del Beb. *8* (4), 83-85, (1989).

El hombre de seis millones de dólares. Morowitz, H.J.- Carvajal Sandoval, G. (traductor). *8* (2), 38-39, (1989).

Nuevos métodos para marcar segmentos de polinucleótidos o genes específicos. Jablonski, E., Moomaw, E.W., Tullis, R.H. yRuth, J.L. (1986). - Arredondo Peter, R.y Pedroza Jurado, E. (comentaristas). *8* (1), 19-20, (1989).

Rompimiento del DNA, catalizado por la ribozima de Tetrahymena. Hersclag, D. y Cech, T.R. -Carvajal Sandoval, G. (comentarista). *8* (3), 62, (1989).

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 de áreas afines. Está dirigido a profesores y estudiantes, por lo que se sugiere que la presentación de los trabajos se ajuste a sus lectores y sea clara y explícita. Serán bienvenidas las contribuciones en forma de artículos de revisión y otras comunicaciones. Se solicita a los autores se ajusten a los siguientes lineamientos para facilitar la labor editorial:

I. ARTICULOS DE REVISION

1) El artículo deberá enviarse en un disco flexible de 5 1/4 pulgadas de 365 KB de capacidad, escrito en el procesador de textos *"Word 5"*, sin ningún formato y con una extensión máxima de 18,000 caracteres. Este deberá ir acompañado de dos impresiones del artículo en el que se marcarán en color las palabras o líneas que deban ir en *cursivas* o **negritas**, así como todas las anotaciones necesarias. En el caso de no tener acceso a este procesador, el manuscrito podrá enviarse mecanografiado, con una extensión que no exceda de 12 cuartillas escritas a doble espacio (27 renglones por cuartilla y 70 golpes por renglón).

2) Se deberá incluir un resumen de más o menos diez renglones, que deberá ir seguido por un conjunto de tres a seis palabras clave, que se usarán como código en el catálogo internacional.

3) Se sugiere un máximo de diez referencias, tanto específicas como de lecturas recomendadas, numeradas en el texto de forma progresiva conforme vayan apareciendo. Cada una debe contener: nombres de los autores, año de publicación entre paréntesis, título del artículo, nombre de la revista, número del volumen en *cursivas* y antecedido por dos puntos el número de la primera y última páginas, de acuerdo con lo que se muestra en el siguiente ejemplo:.

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

   Los libros deberán citarse de la siguiente forma:

   Larckins, B. A., Peralmutter, N. L. y Hukman, 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) Se aceptarán como máximo seis figuras o tablas, las cuales deberán estar dibujadas sobre papel albanene con tinta china o presentarse como fotografías en blanco y negro sobre papel brillante, cuya localización deberá estar señalada en el texto. La limitación en el número de figuras, de tablas y de referencias, obliga a los autores a que se seleccionen aquellas que sean realmente importantes e informativas. Las figuras se deberán numerar con arábigos y las tablas con romanos. Las leyendas y los pies de figuras se deberán adicionar en una hoja aparte. Se deberá considerar que las figuras y las tablas se reducirán de tamaño, aproximadamente a la mitad o a un cuarto de las dimensiones de una hoja carta, las letras y números más pequeños no deben ser menores a los dos milímetros.

5) Se deberá evitar hasta donde sea posible los pies de página. Las abreviaturas poco comunes que se utilicen 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, avisos de reuniones académicas y cursos, bolsa de trabajo, etc.

2) El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de una manera explícita.

3) El trabajo deberá enviarse igual que como se especifica en el inciso I-1.

4) Se aceptarán un máximo de dos referencias incluidas entre paréntesis en el texto. En casos de que se juzgue necesario se podrá incluir una figura o una 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 así como las pruebas de página se comunicarán al primer autor.

Los discos y las dos copias de los manuscritos se deberán enviar al Boletín de Educación Bioquímica, Apdo. Postal 70-281, México 04510, D. F., o al Dr. Alberto Hamabata, Departamento de Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Apdo. Postal 14-740, México 07000, D. F., o bien a través del corresponsal del BEB en su localidad.