



BEB 90

BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA

volumen 9

No. 2

junio 1990

EDITORIAL

SOBRE EL CRITERIO BIOLOGICO

Como profesores del nivel de licenciatura, una de nuestras preocupaciones más profundas es sobre el **importantísimo** papel - y espero que al final de este escrito se reconozca que el superlativo está bien empleado - que los profesores de enseñanza media superior tienen en la formación del criterio de al menos una parte de sus alumnos que serán los futuros profesionistas de este país. Esto significa que si no estudian una carrera en el área de la Biología, es para ellos la última oportunidad de adquirir lo que aquí se denomina el *criterio biológico*.

¿Que importancia puede tener esto? Para intentar dar respuesta a esta pregunta, se plantearán algunas de las condiciones actuales características de este planeta y se tratará de precisar las causas de las mismas y su relación con la carencia del *criterio biológico*.

Se tiene que aceptar que muchas de las tecnologías impresionantes, de los desarrollos sobresalientes de las humanidades o de los descubrimientos científicos impactantes que se han hecho, por ejemplo en los últimos 20 años, no han tenido ninguna repercusión en más del 50% de

los habitantes de este planeta y en un porcentaje similar o aún mayor, de los que viven en este país.

En ese mismo período, por ejemplo, el deterioro de los recursos naturales ha llegado a niveles que parecen increíbles, como lo demuestran las grandes superficies de selvas y bosques que se han transformado en desiertos, a una tasa anual aproximada del 15%, con la consecuente desaparición de muchas especies; transformación que se acompaña con las inevitables secuelas sobre el clima y las condiciones de vida, de por sí críticas, de las comunidades humanas que habitan en esas regiones.

El problema es grave y se debe sin duda a la falta de conocimientos y cultura que ha hecho que los humanos se desentiendan de sus responsabilidades como integrantes de un planeta, que no les pertenece que *nadie* se los dió, en el que apenas llevan unos 3 o 4 millones de años y del que poco o nada conocen, sobre todo de los intrincados sistemas que han permitido la evolución de su propia especie.

Pasa a la pág. 19

COMITE EDITORIAL

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

GUILLERMO CARVAJAL SANDOVAL
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
Instituto Politécnico Nacional

ALBERTO HAMABATA NISHIMUTA
Centro de Investigación y Estudios Avanzados
Instituto Politécnico Nacional

ALBERTO HUBERMAN WAJSMAN
Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán"

CARLOS LARRALDE RANGEL
Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

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

EDITORES ASOCIADOS
ALICIA CEA BONILLA
GUILLERMO ALVAREZ LLERA
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

ASISTENTE EDITORIAL
ELISA MORA
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

INDICE

BEB 90 Vol 9 Núm. 2 Junio de 1990

EDITORIAL

SOBRE EL CRITERIO BIOLOGICO
Jesús Manuel León Cázares.....17

ARTICULOS

ENFERMEDADES MITOCONDRIALES
Patricia I. del Arenal Mena21

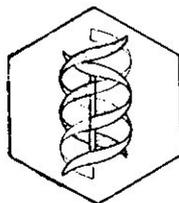
**DETERMINACION DE PARAMETROS DE
"BINDING" HORMONA-RECEPTOR
MEDIANTE LA UTILIZACION DE
PROGRAMAS PARA MICROCOMPUTADORAS.**
Antonio Liras.....26

OTRAS COMUNICACIONES

HOMENAJE AL DOCTOR JUAN ROCA OLIVE
Dr. Gilberto Breña Villaseñor.....31

EL ENTORNO DE LOS ATOMOS
Raúl Arredondo Peter, comentarista.....34

**INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES
DEL BOLETIN DE EDUCACION
BIOQUIMICA.....36**



Asociación Mexicana de
Profesores de Bioquímica, A.C.



Facultad de Medicina,
UNAM

BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA (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.

SOBRE EL CRITERIO BIOLÓGICO

Se requiere de manera urgente, que los habitantes de este planeta dejen de soñar en la vida eterna y se concentren en asegurar una vida decorosa para ellos y para sus descendientes, lo cual no sucederá a menos que la *sociedad de consumo y desperdicio*, se transforme en una comunidad bien informada que se preocupe más por desarrollar el *intelecto*, que por tratar de aparentar que *tiene y es* lo que no es.

Las promesas de una tecnología salvadora se convierten cada vez más en un mito, otro de los tantos que cultiva la estupidez humana, y tal vez no pase mucho tiempo antes de que se sientan, con mayor fuerza, los efectos impactantes de la destrucción que las sociedades denominadas **modernas**, han hecho en menos de 100 años, de lo que a la evolución le llevó los 4,500 millones de años que tiene de existir este planeta.

Este mito se ve cada vez más devaluado a la luz de datos como los siguientes: el 50% de la población del planeta vive en condiciones de hambre; una de las principales causas de mortalidad infantil es el hambre y las infecciones debidas a la falta de condiciones mínimas de higiene; la epidemia del síndrome de inmunodeficiencia adquirida, cobra cada vez más víctimas; la ruta crítica de 5 años para encontrar la cura del cáncer, no se ha podido cumplir a pesar de que han pasado 20 años más; el proceso de desertización del planeta avanza a una tasa del 15% anual; cerca del 50% de la población del mundo es analfabeta, etc, etc.

Esto representa una contradicción importante, por un lado se tiene el avance de las ciencias naturales y la tecnología, que hace posible el corregir enfermedades del sistema nervioso central, por medio de transplantes intracerebrales

y por el otro, la mortalidad infantil por desnutrición y el retroceso que representan las actitudes características de las sociedades de consumo y desperdicio, que no sólo devastan al planeta para producir *pseudo satisfactores*, con poco valor para la sobrevivencia y aún nocivos, sino que no son capaces de proporcionar a una parte importante de la población, los elementos mínimos indispensables para que puedan desarrollar todas sus capacidades y vivir en condiciones decorosas.

¿Cuales pueden ser las causas de esta contradicción? La pregunta seguramente tiene muchas posibles respuestas y puede ser analizada desde muy diversos puntos de vista, algunos inquietantes y otros tranquilizantes, pero entre ellos hay un enfoque que tiene que ver, sin posibilidad de soslayarlo, con la educación. Dentro de este enfoque y en un país como México, los sistemas de educación media superior; considerados como el paso necesario hacia la licenciatura o bien como la manera de que las personas que no puedan o no quieran proseguir una carrera universitaria, obtengan un acervo de conocimientos y experiencias en ciencias y en humanidades -que los capacite para comprender los problemas de la naturaleza y de la sociedad y les permita desarrollarse de la mejor manera posible en cualquier actividad- parecen ser los más adecuados para la formación de los criterios básicos para la cultura general de un ciudadano y dentro de éstos, tal vez uno de los más significativos para la realidad actual sería el *criterio biológico*.

¿Qué se puede entender por criterio biológico? Así como el criterio histórico permite identificar, analizar y entender el proceso que llevó a la integración de una nación específica, el criterio biológico origina la identificación lógica del individuo humano con los procesos que, desde los antecedentes más remotos y a través de los

Pasa a la pág. 20

SOBRE EL CRITERIO BIOLÓGICO

cambios ocurridos en el tiempo, es decir a través de la evolución, han resultado en su propio desarrollo y en el de las características abióticas y bióticas del planeta que habita.

Esta identidad como organismo biológico, debe hacerle comprender su verdadera dimensión y capacitarlo para discernir que antes que ninguna otra cualidad, como su nacionalidad, su cultura, su profesión o sus intereses, es un organismo vivo, sujeto a un conjunto de principios naturales al igual que el resto de los integrantes de la biósfera.

Además le permitirá aceptar la responsabilidad que tiene con el resto de la comunidad biológica del planeta, al reconocer que en un proceso que ha transcurrido cuando menos por unos 3,500 millones de años, es apenas un recién llegado, pues como ya se dijo, la antigüedad de sus ancestros más remotos, es apenas de unos 3 millones de años.

¿Por qué se dice que el criterio biológico puede ser uno de los más significativos para la cultura de un ciudadano? Es muy posible que su identificación con los procesos naturales de la evolución de la vida en el planeta, le permita comprender, por ejemplo, uno de los principios más generales de la relación de los organismos con su ambiente y darse cuenta de que las modificaciones del mismo, siempre repercuten sobre los organismos inmersos en él y por lo tanto que no es posible modificar esas condiciones sin afectar drásticamente la cadena de fenómenos que hacen posible la subsistencia de las especies.

Así, tal vez antes de talar un bosque o una selva o de acabar, por razones de supuesta diver-

sión o por supersticiones estúpidas, con especies animales incluso más antiguas que él en el planeta, se detendrá a pensar sobre su posición dentro, y no sobre, la naturaleza, y se generará una actitud lógica de respeto, que de ninguna manera se deberá confundir con la inmovilidad y el conservacionismo irracional, sino que hará posible la administración de los recursos y evitará su devastación.

Además, esta actitud seguramente modificará la dinámica de las sociedades de consumo y desperdicio, al poner en desuso el criterio utilitario y la famosa frase de: "*el que venga atrás que arríe*".

¿Se podrían prever algunos otros efectos de la difusión de este criterio biológico? Es posible que el compartir el criterio biológico podría hacer que la comunidad se transformara en una sociedad bien informada, incluso orientada por la ciencias y las humanidades, capaz de superar algunos de los patrones de conducta de subordinación y fatalismo, ahora tan frecuentes, que son causas importantes de las actitudes acrílicas, pasivas y resignadas, asumidas por muchos ciudadanos ante sus propias condiciones y las de sus comunidades.

Una consecuencia de esto, debería ser la consolidación de un *demos*, que ya no considere esas condiciones como fatales, como la única realidad posible y sin oportunidades de modificación, que es como generalmente se le presentan, dentro de marcos de referencia supuestamente científicos, como se hace con algunos modelos económicos, o bien con ciertas proposiciones de supuesta organización internacional como el ahora famoso nuevo orden mundial, qué se plantean como las soluciones adecuadas y no sólo como propuestas de soluciones entre otras posibles.

Viene de la pág. 20

SOBRE EL CRITERIO BIOLÓGICO

Se podría esperar que los cambios de actitud generados por ese nuevo punto de vista de la realidad, modificarán las posibilidades de educación que privan en la actualidad en que, por ejemplo en México, de toda la población en edad de llevar a cabo estudios superiores, sólo tiene oportunidad, muchas veces por factores circunstanciales que no están relacionados con

sus capacidades o sus deseos de estudiar, una de cada 40 personas.

Esta serie de suposiciones quedan a la consideración de los lectores, a los que sólo resta preguntar si consideran adecuado el calificativo de **importantísimo** para el papel que los profesores de enseñanza media superior tienen en la formación de ese criterio entre sus alumnos.

Jesús Manuel León Cázares.

ENFERMEDADES MITOCONDRIALES.

Patricia I. del Arenal Mena. Departamento de Bioquímica, Fac. de Medicina. U.N.A.M.

En 1962 Luft describió el interesante caso de una enferma de 35 años de edad, con hipermetabolismo severo, sin control respiratorio y que disipaba la energía como calor y no la utilizaba para la síntesis del ATP (Enfermedad de Luft). Este fue el primer caso documentado y definido como una enfermedad de origen mitocondrial; a partir de entonces se han descrito un gran número de alteraciones en el funcionamiento de este organelo celular.

Algunos aspectos del funcionamiento mitocondrial han sido descubiertos gracias a las enfermedades que afectan este organelo, por ejemplo, el hecho de que sólo uno o a veces varios tejidos, pueden tener mitocondrias enfermas y no necesariamente todo el organismo. En este caso, aquellos tejidos con gran demanda aerobia como el cerebro, el músculo, el hígado, etc. presentan manifestaciones fenotípicas alteradas; sin embargo, otros tejidos pueden estar afectados sin que haya una manifestación clínica aparente. Estas enfermedades pueden ser toleradas y el individuo puede llegar a la edad adulta; o bien pueden ser fatales en los primeros meses de vida. Otro aspecto interesante fue el hecho

de que puede haber reversión del cuadro patológico, como fue descubierto en una enfermedad mitocondrial de manifestación temprana.

Para entender el nivel al cual puede estar afectado el funcionamiento mitocondrial y entender la naturaleza de estas enfermedades, es importante revisar brevemente algunos aspectos de la biogénesis de este organelo.

La biogénesis de la mitocondria necesita del aporte genético de dos sistemas diferentes (Fig.1). El primero de éstos, con capacidad para codificar una mayor cantidad de proteínas, es el nuclear, que en los animales superiores, contiene aproximadamente el 99% del DNA total; el segundo corresponde al DNA mitocondrial, con el 1% restante.

Aquellas proteínas codificadas en el núcleo y sintetizadas en el citosól tendrán que ser incorporadas a la mitocondria, lo que implica, al menos: a) Una señal de identificación para ser incorporadas al interior del organelo (péptido señal); b) Un mecanismo receptor o translocador para su ingreso.

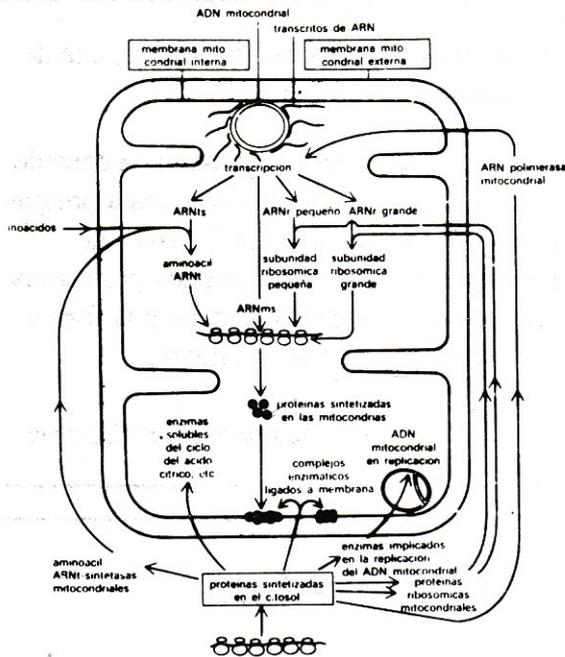


Figura 1. Origen bigenómico de las proteínas mitocondriales. Una gran mayoría de ellas son codificadas por el DNA nuclear, sintetizadas en el citosol y posteriormente, transferidas a la mitocondria. Sólo el 1% (en mamíferos superiores) es transcrito a partir del DNA mitocondrial y sintetizadas en la matriz mitocondrial.

Además, requieren la presencia de proteínas desestabilizantes, que unidas a proteínas en el citosol, las mantengan parcialmente desnaturalizadas, para que su penetración a través de las membranas mitocondriales sea posible.

En el genoma mitocondrial humano, han sido identificadas 13 secuencias para proteínas, 2 genes para RNAr y 22 genes para RNAt. Las proteínas serán sintetizadas en la matriz mitocondrial, pero para que esto sea posible necesitarán también del aporte citosólico de ciertos constituyentes, por ejemplo, las proteínas que forman parte de los ribosomas mitocondriales. De cualquier manera, además de esta maquinaria de síntesis bigenómica, las proteínas sintetizadas en la matriz mitocondrial requieren también, de señales de reconocimiento para su localización final.

De acuerdo a lo anterior, una alteración genética a nivel de una proteína propia del organelo, sea

codificada en el núcleo o en la mitocondria, daría origen a una enfermedad denominada "mitocondrial primaria", e incluye alrededor de 100 proteínas que pueden estar afectadas en su actividad catalítica, en su importación, en su localización o en su degradación, lo cual puede suceder por errores a nivel del transcrito primario, del procesamiento postranscripcional o bien a nivel del reconocimiento o de la translocación para ingresar a la mitocondria.

Existen también enfermedades mitocondriales secundarias originadas por alteraciones generales, que repercuten profundamente en el funcionamiento mitocondrial, por ejemplo:

a) La desnutrición severa, que causa una disminución de los componentes mitocondriales.

b) La isquemia, que en grado extremo produce la desaparición de los citocromos.

c) Los inhibidores mitocondriales de origen exógeno, como el alcohol o endógeno, como el fenilpiruvato, que se acumula en los enfermos fenilcetonúricos.

d) Las alteraciones en el ciclo del Ca^{2+} , lo que puede originar una disminución en la producción de ATP y desacoplamiento de la fosforilación oxidativa (ésta puede ser la alteración en la enfermedad de Luft, descrita inicialmente).

En el grupo de las enfermedades primarias, los defectos a nivel de la cadena respiratoria son los más estudiados. Por esta razón, en la segunda parte del artículo se revisarán algunos aspectos de tales alteraciones.

La cadena respiratoria está formada por 4 complejos enzimáticos que transportan electrones hasta el O_2 y pueden existir alteraciones en aproximadamente 60 de sus diferentes componentes (Fig. 2).

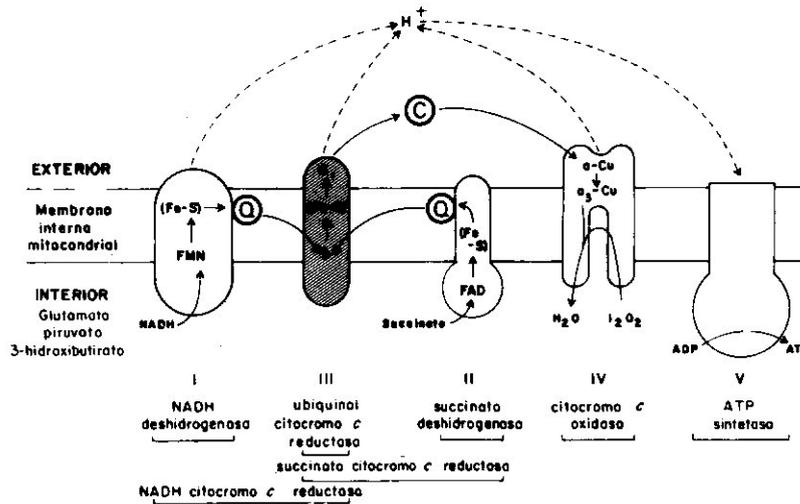


Figura 2. Complejos del sistema respiratorio mitocondrial. Siete subunidades del complejo I, dos del complejo III y tres del IV, así como Fo y F1 de la ATPasa, son codificados por el DNA mitocondrial.

Complejo I:

NADH-Ubiquinona reductasa. Formada por alrededor de 30 polipéptidos diferentes 7 de los cuales son codificados por el DNA mitocondrial.

Complejo II:

Succinato-Ubiquinona reductasa. Formada por 5 componentes, todos codificados por el DNA nuclear.

Complejo III:

Ubiquinona-citocromo c reductasa. 11 polipéptidos, uno de ellos codificado por el DNA mitocondrial.

Complejo IV:

Citocromo c oxidasa, con 13 subunidades, 3 codificadas por el DNA mitocondrial.

Es, precisamente a nivel de los componentes de la cadena respiratoria, donde se han hecho evidentes las características de las enfermedades mitocondriales mencionadas al inicio del trabajo. La presencia de isoenzimas específicas de tejido, por ejemplo de la citocromo oxidasa (Fig. 3), podría explicar algunas manifestaciones de enfermedad en un tejido y en otro, no.

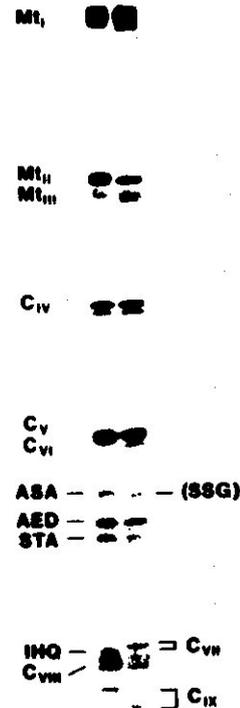


Figura 3. Electroforesis en gel de poliacrilamida de la citocromo oxidasa de músculo cardíaco (izquierda) y de hígado de res. MI, MII y MIII corresponden a subunidades de origen mitocondrial. CIV a CIX corresponden a polipéptidos sintetizados en citosol; AED, STA y ASA (SSG en hígado) son polipéptidos que no tienen homólogos con subunidades en la citocromo oxidasa de eucariontes inferiores. CVII, CIX, AED y STA son subunidades específicas de tejido.

La existencia de una enfermedad mitocondrial que revierte, podría explicarse por la presencia de las llamadas "isoformas", que se han descrito en niños con sólo un pequeño porcentaje de proteínas con actividad de la citocromo oxidasa de músculo esquelético, en comparación con niños normales. En el caso mencionado, la deficiencia revirtió hasta alcanzarse la actividad normal de la enzima, más o menos al año y medio de vida. Existen evidencias sobre la existencia de dos formas de citocromo oxidasa: una forma fetal y una forma adulta, lo que podría explicar el por qué estos niños se recuperan.

Son varios los métodos para el diagnóstico de estas alteraciones:

1) Ultraestructural. Se pueden observar las mitocondrias morfológicamente alteradas, en biopsias del tejido afectado. En algunas miopatías, es frecuente encontrar agregados de mitocondrias en el espacio entre las fibras musculares y entre miofibrillas, que se ven como fibras rojas cuando se tiñen con la técnica tricrómica (Ragged red-fibers). Es posible encontrar alteraciones en el número (aumentado) y la forma de las mitocondrias, así como en el número, la forma y la orientación de las crestas. Algunas veces se observan depósitos de cristales entre las dos membranas, o entre las crestas (Fig. 4).

2) Bioquímico. Se han detectado alteraciones al realizar la medición de la actividad de las diferentes reductasas, ya sea por técnicas polarográficas, determinando el consumo de oxígeno, como por técnicas espectrofotométricas. Con este último método se puede además, conocer la cantidad de los citocromos b, c y aa₃.

3) Inmunológico. Se ha detectado la presencia de algunos de los componentes de la cadena mediante el uso de anticuerpos dirigidos contra ellos.

Los síntomas y la gravedad del padecimiento varían de acuerdo al complejo que se encuentre

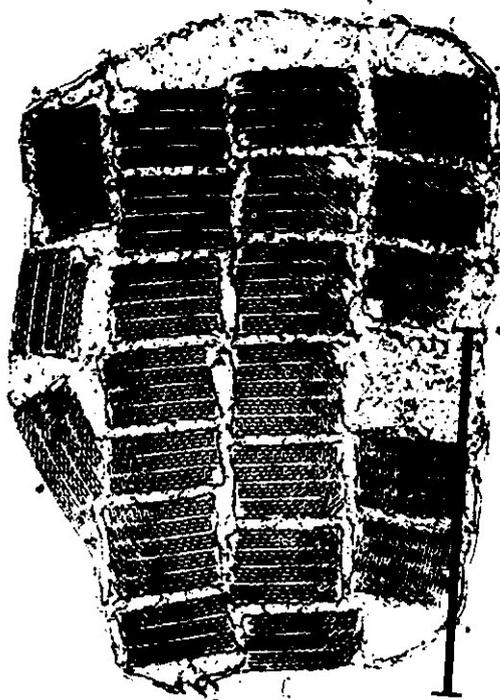


Figura 4. Inclusiones paracristalinas tipo "batería" (parking lot) en las mitocondrias musculares. Aunque normalmente se encuentran presentes en estados mitocondriales patológicos, no necesariamente reflejan una alteración en este organelo. Se propone que estas inclusiones corresponden a subunidades proteicas.

alterado y al tejido afectado. Así por ejemplo, los daños a nivel del complejo II, al parecer son más graves y en muy pocos casos se han reportado. Existe el caso de un paciente con deficiencia de citocromo b en el hígado (complejo III), que presentó una actividad remanente de 50% en la respiración y que es además, insensible a antimicina, lo que podría sugerir la posible existencia de una vía alterna para el transporte de electrones. Una alteración en el complejo III de músculo esquelético parece ser mejor tolerada que una a nivel del complejo IV; pero si esta misma alteración del complejo III ocurre en el corazón, resulta fatal en la infancia.

En general, en una miopatía debida a la ausencia de citocromo oxidasa aa_3 , los síntomas dominantes son debilidad muscular y acidosis láctica. En el hígado, esta misma deficiencia provoca síntomas más diversos, como desnutrición, anemia, aminoaciduria, diarrea y vómito.

Se han descrito avances en el uso de ciertos compuestos administrados para tratar de curar algunas alteraciones. Tal es el caso de un niño con una miopatía, debida a problemas en el complejo I. Se ha publicado que la administración de riboflavina por vía oral es benéfica para el enfermo. Otra miopatía con alteración en el complejo III fue tratada con menaquinona (vitamina K2) y ascorbato -el primero funciona como un reductor y el segundo, en una vía alterna hasta citocromo c-. Este tratamiento produjo una mejoría en el estado general de la enferma, así como una mayor capacidad para realizar ejercicio.

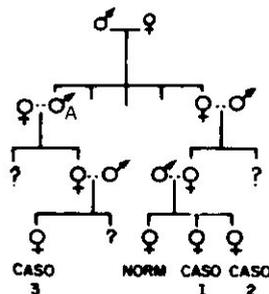
ASPECTOS GENETICOS: Una alteración a

CASO	TEJIDOS ESTUDIADOS		
	Músculo	Hígado	Corazón
1	b^- , aa_3^-	normal	normal
2	b^- , aa_3^-	b^-	normal
3	-----	b^- , aa_3^-	-----

Estos dos hechos nos indican que, la población mitocondrial en los tejidos de un mismo organismo es heterogénea, debido, posiblemente, a la segregación diferencial hacia los diversos tejidos. Otra posible explicación que se ha dado es que, al interactuar el producto de los genes mitocondriales con diferentes isoenzimas pueden, en un caso, dar un fenotipo patológico en un tejido, y en otro no.

nivel del DNA mitocondrial puede ser heredada a todos los hijos, en la primera generación, solamente por la madre ya que estos organelos son exclusivamente del citoplasma del óvulo (herencia de Eva). En las generaciones subsiguientes, por esta misma razón, sólo las mujeres podrán padecer y transmitir estas enfermedades. Sin embargo, existe al menos un dato en la literatura (Fig.5), en el que un tío abuelo (A) de dos niños con deficiencia en citocromo b y aa_3 (casos 1 y 2) heredó a su nieto (caso 3) esta alteración.

Además de la interrogante sobre esta herencia, a través del tío abuelo, se presenta otro aspecto interesante que es la forma diferente en que este padecimiento se manifiesta, inclusive entre hermanos ya que como apreciamos en el esquema anterior, mientras el contenido de citocromos en el hígado del caso 1 fue normal, en el hígado de su hermana (caso 2), no se encontró el citocromo b.



BIBLIOGRAFIA.

- 1 Scholte, H.R. (1988): *The biochemical basis of mitochondrial diseases*. J. Bioenerg. Biomem 20 (2): 161-191.
- 2 Aprille, J.R. (1985): *Tissue specific cytochrome deficiencies in human infants in achievements and perspectives of mitochondrial research*. Vol. II. Biogenesis, 465-476. E.Quagliariello et al. Editors. Elsevier Sci. Publishers. B.V. Amsterdam, N.Y., Oxford.

- 3 Capaldi, R.A. (1988): *Mitochondrial myopathies and respiratory chain proteins*. TIBS 13: 144-147.
4. Desnuelle, C. et al. (1989): *Multiple defects of the respiratory chain including complex II in a family with myopathy and encephalopathy*. Bioch. Biophys. Res. Comm. 163 (2): 695-700.
5. Alberts, B. (1983): *Molecular biology of the cell*. Garland Publishing Inc. N.Y. 528-544.
6. Carafoli, E. (1986): *Mitochondrial pathology: an overview*. Annals New York Academy of Sciences. 488: 1-18. Ed.
- Bianch, G., Carafoli, E., Scarpa, A. N.Y. Acad. Sci.
7. Capaldi, R.A., Takamiya, S., Zhang, Y., González-Halphen, D. y Yanamura, W. (1987): *Structure of cytochrome-c oxidase*. Current Topics in Bioenergetics XV. C.P. Lee, Editor. Acad. Press. Inc. San Diego, Cal. 91-108.
8. Kadenback, B., Kuhn-Nentwig, L. y Büge, V. (1987): *Evolution of a regulatory enzyme: cytochrome-c oxidase (complex IV)*. Current Topics in Bioenergetics XV. C.P. Editor. Acad. Press Inc. San Diego, Cal. 114-152.

DETERMINACION DE PARAMETROS DE "BINDING" HORMONA-RECEPTOR MEDIANTE LA UTILIZACION DE PROGRAMAS PARA MICROCOMPUTADORAS.

Antonio Liras, Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid. España. C/ Ferraz 114, 4º D. 28008 Madrid. España.

RESUMEN

La disponibilidad de microcomputadoras más económicas y manejables, ha permitido el análisis más rápido de datos bioquímicos y de cálculos complejos. En este trabajo se describe un programa para computadora para el cálculo en las determinaciones de parámetros de "binding" de una molécula a su receptor, en particular para insulina, generalmente muy tediosos, lo que permite un gran ahorro de tiempo y una mayor precisión en los resultados.

El programa está escrito en un sencillo lenguaje BASIC para microcomputadoras de bolsillo más asequibles realmente sobre todo, para el estudiante universitario de primeros cursos y de utilidad en estudios sencillos de "binding" por su facilidad de uso y la rapidez en la obtención de resultados *in situ* en el laboratorio (unos pocos segundos para cada análisis completo de Scatchard), o bien en el taller de enseñanza práctica de este aspecto bioquímico de la interacción hormona-receptor.

INTRODUCCION

Desde que las microcomputadoras se introdujeron en las universidades, centros de investigación y centros hospitalarios en la década de los años setenta, su aplicación se ha extendido rápidamente desde el principio en que constituían tan solo una entidad aislada dentro de un laboratorio.

La dramática disminución en el costo de las computadoras acaecida en los últimos años, así como la aplicación de las más recientes metodologías para computadoras en distintos estudios bioquímicos y en particular, para el análisis numérico de datos en cálculos complejos, ha facilitado extraordinariamente el trabajo experimental en esta área (1).

Por otra parte y ya que la computadora tiene la capacidad de desarrollar una gran cantidad de cálculos numéricos a una alta velocidad de operación, constituye por esta razón una muy valiosa herramienta de trabajo para estudios cuantitativos, tales como la determinación de parámetros de "binding"

que conllevan en general, un análisis extraordinariamente tedioso con una gran inversión de tiempo.

En este trabajo, se describe la utilización de un programa para computadora escrito en un lenguaje BASIC sencillo para la determinación de parámetros de "binding" hormona-receptor, utilizando las microcomputadoras de bolsillo más económicas, con facilidad de uso en el laboratorio por la rapidez en la obtención de resultados *in situ* en estudios sencillos de "binding", así como en el taller de enseñanza práctica de este aspecto bioquímico de la interacción hormona-receptor.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Estudio de "binding"

Se utilizaron ratas Wistar machos alimentadas. Los hepatocitos se aislaron por perfusión del hígado con colagenasa según el método de Castaño y col. (2), ensayando la viabilidad celular mediante la prueba de exclusión de azul Tripán y que resultó ser en todos los casos mayor del 90% .

El estudio de "binding" de mono-(¹²⁵I)insulina a hepatocitos aislados de rata se llevó a cabo por técnicas de competencia según el método modificado de Fantus (3). Los hepatocitos se resuspendieron, hasta una concentración de 2×10^6 células/ml ó 2.64 mg proteína/ml, en medio A que contenía 50 mM Hepes y 0.2% BSA, pH 7.4, con mono-(¹²⁵I)insulina porcina con una actividad específica de 2,200 Ci/mol de Radiochemical Centre (Amersham, Inglaterra) y a una concentración final de 0.4×10^{-10} M en ausencia y en presencia de concentraciones crecientes de insulina no marcada hasta un total de 8 concentraciones diferentes en el rango comprendido entre 0.66×10^{-9} a 1×10^{-5} M, en un volumen final de 250 μ l por tubo de ensayo. Las incubaciones en tubos de plástico para evitar la adhesión de insulina al vidrio, se desarrollaron por triplicado en un baño agitador a 180 golpes/min, a 15°C y durante 2 horas. Los hepatocitos se separaron por centrifugación a 10,000 x g durante 1 min

y se lavaron después dos veces con medio A, midiéndose la radiactividad retenida en el precipitado celular en un contador gamma.

Análisis matemático

El binding se expresa como la relación entre la cantidad de hormona asociada de forma específica y la cantidad de hormona libre. La asociación específica se obtiene por sustracción al "binding" total el "binding" no específico, que se define como la cantidad de (¹²⁵I)insulina unida en presencia de un exceso (1×10^{-5} M) de insulina no marcada y que representa menos del 5% de la radiactividad total. El análisis de Scatchard de las curvas de competencia para obtener el número de sitios de unión y la afinidad, se llevó a cabo por estimación de las asíntotas de las gráficas de Scatchard por análisis de regresión lineal (4). El análisis matemático se desarrolló mediante la utilización del programa, objeto de este trabajo, para microcomputadoras de bolsillo que a continuación se describe.

DESCRIPCION Y USO DEL PROGRAMA PARA COMPUTADORA

El programa está escrito en BASIC con una ocupación total de memoria de 942 bytes, diseñado para personas con mínima experiencia en computadoras y en programación y para su empleo, fundamentalmente y en principio, en una microcomputadora personal de bolsillo CASIO FX-720P (14.3 x 165 x 82 mm) o similar con funciones tanto fundamentales como de cálculo especial y comandos Basic. El sistema de programación utiliza una tarjeta RAM de 2 Kbytes con una capacidad total de 1,568 bytes libres, distribuidos en 10 áreas (P0 a P9). La pantalla incluye 10 cifras de mantisa, dos de ellas para exponentes.

TABLA I

Asignación de variables usadas en los programas

Variable	Asignación	Pantalla (Display)
L	Concentración de hormona marcada	(H)', M
M	Factor de vida media que determina la actividad específica actual de la hormona	FACTOR
N	Volumen final (ml) por ensayo	Vf assay
O	Radioactividad por ensayo	cpm/assay
P	Radioactividad no específica	cpm non-specific
\$	Opción de cálculo: By protein YES ó NON	By protein?
Q	Células ó µg de proteína por ensayo	Cells/assay ó µg prot/assay
K\$, C\$	Concentración de hormona no marcada	(H), M
J\$, D\$	Radioactividad asociada para cada concentración total de hormona	cpm
A	Unión específica (bound)	B=
B	Razón bound/free.	B/F=
E\$	Opción para continuar en el programa: OTHER OPTION, YES ó NON	OTHER OPTION?
X\$	Bound (dato de abscisa)	B?
Y	Bound/free (dato de ordenada)	B/F?
U	Constante de afinidad	Ke ^b x _{E7} M ⁻¹
Q ^a	Número de receptores por mg proteína	Receptors/mg prot
T	Número de receptores por célula	Receptors/cell

^aVariable usada también en el listado II.

^bLa expresión E_7 en lenguaje BASIC es equivalente a 10^7 .

La asignación de variables se muestra en la Tabla I y corresponde a los programas que se listan en la Figura 1. Los programas están compuestos de tres partes de desarrollo: Introducción de datos (INPUT), manejo de datos y expresión y muestra de los resultados. Cuando el programa I (LISTING I) comienza, los datos requeridos se solicitan en pantalla, así como, la opción de cálculo para la expresión de los resultados, por proteína o por número de células. El programa I se localiza en una área de la memoria, por ejemplo, en PO, y calcula el valor de insulina asociada B (BOUND)

en fmoles/10⁶ células ó en fmoles/mg de proteína y la relación entre la cantidad de insulina asociada y libre B/F (BOUND/FREE) en ml/10⁶ células ó ml/mg proteína. El segundo programa (LISTING II), localizado en otra área de memoria (P1), ofrece los parámetros de "binding" como son las constantes de afinidad Ke (K barra e) y el número de receptores o sitios de unión, mediante análisis de regresión lineal utilizando los datos de B (abscisa) y B/F (ordenada), obtenidos en el programa I.

LISTING I

```

20 PRINT "BINDING"
30 INPUT "(H)",M,L,"FACTOR",M,"Vf assay",N
40 INPUT "cpm/assay",O,"cpm non-specific",P
50 INPUT "By protein",S
60 IF S="YES" THEN 190
70 INPUT "Cells/assay",Q
80 INPUT "(H)",M",K$
90 IF K$="" THEN 280
100 INPUT "cpm",J$
110 K=VAL(K$)
120 J=VAL(J$)
130 A=((J-P)*(M*L+K)*N*1E18)/(O*Q)
140 B=A/((M*L+K)*1E12-((A*Q)/(N*1E6)))
150 SET F3
160 PRINT "B=";A,"B/F=";B
170 IF S="YES" THEN 200
180 GOTO 80
190 INPUT "µg prot/assay",Q
200 INPUT "(H)",M",C$
210 IF C$="" THEN 280
220 INPUT "cpm",D$
230 C=VAL(C$)
240 D=VAL(D$)
250 A=((D-P)*(M*L+C)*N*1E12)/(O*Q)*1E3
260 B=A/((M*L+C)*1E12-((A*Q/1E3)*1/N))
270 GOTO 150
280 INPUT "OTHER OPTION",E$
290 IF E$="YES" THEN 50
300 GOTO 20

```

LISTING II

```

5 SET N
10 PRINT "LIN REG"
20 CLEAR
25 INPUT "By protein",S
30 B=B+1
40 PRINT:BEEP 1
50 PRINT "B"; B; "=";
60 INPUT X$: BEEP 1
70 IF X$="" THEN B=B-1: BEEP 0: GOTO 160
80 C=C+VAL(X$)
90 D=D+VAL(X$)*2
100 PRINT "B/F"; B; "=";
110 INPUT Y
120 H=H+Y
130 I=I+Y*Y
140 M=M+VAL(X$)*Y
150 GOTO 30
160 O=(B*M-C*H)/(B*D-C*C)
170 N=(H-O*C)/B
180 P=(P*M-C*H)/SQRT((B*D-C*C)*(B*I-H*H))
185 SET F1
190 Q=((O-N)/O)*6.02E23*1E-15
200 U=- (Q*1E5)
210 SET F1
220 PRINT "Ke="; U; "E7 M-1"
225 IF S="YES" THEN 260
230 PRINT Q;" Receptors/mg prot"
240 GOTO 5
250 SET F0
260 T=Q/1E6
265 SET F0
270 PRINT T;" Receptors/cell"
280 GOTO 5

```

Figura 1. Listado de programas. Listing I: Cálculo de parámetros de "binding" bond (B) en fmoles/ 10^6 células o fmoles/mg proteínas, y la razón bound/free (B/F) en ml/ 10^6 células o ml/mg proteína. Listing II: Cálculo de constantes de afinidad (K_e) en M^{-1} y del número de receptores por célula o por mg de proteína después del análisis de regresión lineal. La expresión E^n en lenguaje BASIC es equivalente a 10^n .

La introducción de los datos, la obtención de un resultado, la selección de la opción para la expresión de los resultados y el final de la introducción de los datos correspondientes a la concentración de insulina (presionando la orden ENTER) y las correspondientes cuentas por minuto (c.p.m), que permiten otra opción y la introducción de los datos de B y B/F en el programa de regresión lineal (Programa II) se lleva a cabo mediante la orden ENTER.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos después de la introduc-

ción de los datos (INPUT) utilizando el programa para computadora para las diferentes concentraciones de insulina y la radiactividad asociada, se muestran en la Tabla II. En las condiciones de ensayo que se describen, se obtienen los siguientes parámetros de "binding": Valor de unión (Bound) expresado en fmoles por millón de células o por mg de proteína y la razón entre unido y libre (Bound/Free) expresada en ml por millón de células o por mg de proteína (Listing I) y las constantes de alta y baja afinidad, así como el número de receptores de alta afinidad y el número total de receptores para esta hormona por célula o por mg de proteína (Listing II).

TABLA II
Parámetros de "binding"^a obtenidos mediante el programa computerizado

	Condición de ensayo						
	1	2	3	4	5	6	7
Insulina (moles/l) × 10 ⁻⁹	-	0.66	1.45	2.62	5.92	14.5	23.8
Radioactividad (cpm)	2,688	2,502	2,166	1,713	1,268	947	777
B (fmoles/10 ⁶ cells)	2.309	35.624	64.596	88.516	139.431	236.609	298.079
B/F (ml/10 ⁶ cells)	0.062	0.056	0.047	0.036	0.025	0.017	0.013
B (fmoles/mg prot)	1.749	26.988	48.936	67.057	105.629	179.249	225.817
B/F (ml/mg prot)	0.047	0.043	0.036	0.027	0.019	0.013	0.010
K _e (M ⁻¹) ^b 30						
K _e ' (M ⁻¹) ^c 7.55						
Re/cell ^d 130,234						
Ro/cell ^e 280,029						
Re/mg prot 9.79 × 10 ¹⁰						
Ro/mg prot 2.14 × 10 ¹¹						

^a Los resultados se obtuvieron a partir de los siguientes datos introducidos (INPUT): Concentración de hormona marcada, 0.63 × 10⁻¹⁰ moles/l; factor de vida media de (¹²⁵I)insulina, 0.668; volumen final por ensayo, 0.25 ml; radioactividad total por ensayo, 22,556 cpm; radioactividad no específica, 213 cpm; número de células por ensayo, 500,000; µg de proteína por ensayo, 660 y las distintas concentraciones de hormona (moles/l) y su correspondiente radioactividad asociada (cpm) que se muestran en la tabla.

^b Constante de alta afinidad. Valor por 10⁷.

^c Constante de baja afinidad. Valor por 10⁷.

^d Número de receptores de alta afinidad para insulina por célula ó por mg de proteína.

^e Número de receptores totales por célula ó por mg de proteína.

Las constantes de alta afinidad así como el número de receptores de alta afinidad para insulina, se obtienen mediante el funcionamiento del programa del listado II, utilizando la porción lineal inicial del trazado de Scatchard en el intervalo de concentraciones bajas de insulina (condiciones de ensayo 1 a 4) en la Tabla II, por el cálculo de la pendiente y el punto de intersección en el eje de abscisas, respectivamente. Las constantes de baja afinidad y el número total de receptores se calculan de igual forma pero en el intervalo de concentraciones mayores de insulina (condiciones de ensayo 5 a 7). La unión específica de (¹²⁵I)insulina a su receptor en hepatocitos, expresada por millón de células, se muestra en la Figura 2, junto con el trazado de Scatchard obtenido en esta experimentación.

Mediante el uso de este programa para computadora se lleva a cabo un cálculo rápido de parámetros de "binding", con la posibilidad de expresar los resultados bajo dos opciones, por célu-

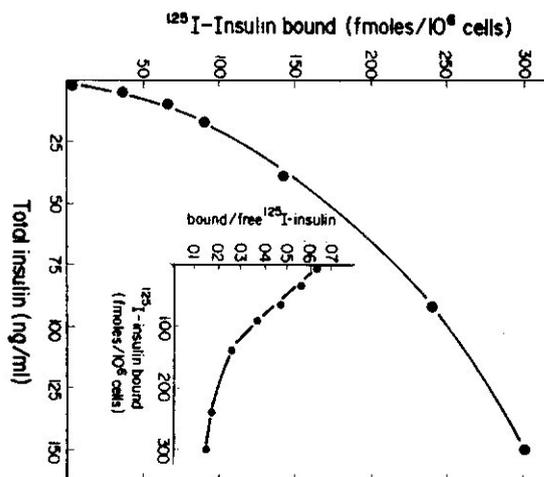


Figura 2. "Binding" específico de (¹²⁵I) insulina. Los datos representan la cantidad de (¹²⁵I)insulina que se asocia específicamente a su receptor en distintas condiciones de concentración de hormona, y el trazado de Scatchard correspondiente a los mismos resultados. Se representan los valores de la razón B/F frente a la concentración correspondiente de hormona asociada, a partir de experimentos llevados a cabo en triplicado.

las o por proteína, sin necesidad de volver a introducir los datos experimentales en el ordenador. Se requieren tan solo 180 segundos para la ejecución de cada trazado total de Scatchard, con una gran facilidad de uso, ya que la ventaja que presenta el lenguaje BASIC es que es sencillo de comprender para programadores inexpertos, puede ser modificado fácilmente y adaptado a otras computadoras, como computadoras PC compatibles capaces incluso de representar los resultados mediante un "software" gráfico incorporado, con la posibilidad de obtener otros parámetros y la visualización de los resultados en un corto periodo de tiempo.

Por otra parte, el modo operativo del programa es fácil de comprender y de manejar, sin un exhaustivo conocimiento en programación informática y adaptado a microcomputadoras de bolsillo más asequibles, lo que facilita su utilización en cualquier parte del laboratorio en estudios sencillos de "binding" en la obtención de resultados *in situ*, y puede ser de utilidad también en la enseñanza de este aspecto de la interacción hormona-receptor, desde el punto de

vista bioquímico, en el taller de enseñanza práctica de la bioquímica. En este sentido el estudiante de bioquímica puede, mediante el manejo y modificaciones del programa para computadora llevadas a cabo por él mismo, llegar a entender y comprender las ecuaciones, significado y cálculos concretos en este tipo de metodología específica, como son los protocolos destinados a los estudios de "binding" hormona-receptor.

REFERENCIAS

1. Leatherbarrow, R.J. (1990): *Use of nonlinear regression to analyse enzyme kinetic data: application to situations of substrate contamination and background subtraction*. Biochem. 184, 274-272.
2. Castaño, J.G., Alemany, S., Nieto, A. y Mato, J.M. (1980): *Activation of phospholipid methyltransferase by glucagon in rat hepatocyte*. J. Biol. Chem. 255, 9041-9043.
3. Fantus, I.G., Ryan, J., Hizuka, N. y Gorden, P. (1981): *The effect of glucocorticoids on the insulin receptor: An in vivo and in vitro study*. J. Clin. Endocrinol. Metab. 52, 953-960.
4. Scatchard, G. (1949): *The attraction of proteins for small molecules and ions*. Ann. NY. Acad. Sci. 51, 660-672.

HOMENAJE AL DR. JUAN ROCA OLIVE (1890-1961).

Jefe del Departamento de Bioquímica (1933 a 1959) de la Escuela Nacional de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. Semblanza en homenaje póstumo en el centenario de su natalicio.

"Cuando un joven que todavía no se ha encontrado intelectualmente, pero que está deseoso de dedicar su vida a una rama de la medicina, sea clínica, patología, higiene, bacteriología, fisiología o farmacología, me hace el honor de consultarme, mi consejo es siempre: Estudia química cuando menos durante tres años y esfuérzate en dominar lo suficiente de esta gran ciencia para iniciar tu carrera".

John J. Abel (1929)

Por invitación, sin más mérito que ser sobreviviente de una época remota y haber cultivado el trato de una personalidad tan destacada como el Dr. Juan Roca Olivé, accedí a redactar esta semblanza a manera de homenaje póstumo, por demás merecido, pero en verdad un poco tardío.



Los datos los extraje de mi memoria, confirmados y documentados por su curriculum vitae, redactado por él, a manera autobiográfica en la época postrera de su vida y enriquecido por su último retrato que me dio su hijo, el Ing. Juan Roca Camargo.

Gustoso entrego este manuscrito para enaltecer la memoria del Maestro, Bioquímico, Investigador, dilecto amigo y excelente anfitrión, pues con frecuencia invitaba a los “jóvenes amables” que éramos, entre ellos, el Dr. José Laguna García, el Dr. Jesús Guzmán, el Prof. José Suárez Isla y muchos de los profesores de la actualidad que degustaron sus suculentas paellas, exquisitos pasteles y sobre todo, su trato humano que, como todas sus cualidades, prodigaba con largueza.

¡Qué justo es recordar, con gratitud, admiración y cariño, la meritoria labor de los pioneros de la medicina científica en nuestro país!. Son ellos los sembradores del conocimiento científico, embrionario y humilde entonces, ahora vigoroso y arrogante, controvertido y a veces, mercenario y desviado de los prístinos destinos que ellos quisieron darle.

A los treinta años de su fallecimiento, su recuerdo surge envuelto en cálido afecto. Tuve la fortuna de conocerle, me honró con su amistad y, como sucedía a todos los que lo trataban, despertó en mí un sentimiento afectuoso y el reconocimiento de su gran valer. Su modestia personal sólo dejaba entrever, en pocas ocasiones, su sólida formación científica.

En retrospectiva, debe haber sido gigantesco el esfuerzo que realizó para que, en el medio social y científico en el que apenas estaba en gestación el cambio que transformó la Escuela de Medicina, se arraigaran y florecieran los conocimientos modernos que el Dr. Juan Roca Olivé ya tenía en su formación profesional.

Nació en Tarragona, España, el 17 de septiembre de 1890. Allí hizo sus primeros estudios y en la Universidad de Barcelona se graduó de Licenciado en Farmacia, y después, se trasladó a la Universidad de Madrid. Cursó con calificaciones sobresalientes y Matrícula de Honor, las materias para el Doctorado en Farmacia, que recibió con la más alta distinción. Su tesis doctoral “Procedimientos biológicos para la dosificación de ciertas sustancias” y su trabajo en esa época “Constitución de algunos lípidos del bacilo de Koch” ya versaba claramente hacia la Bioquímica, que se gestaba en el seno de su progenitora, la Química Orgánica.

En 1918 se trasladó a los Estados Unidos de Norteamérica y en la Universidad de John Hopkins, Baltimore, Md. hizo investigaciones en Química Fisiológica, al lado del Dr. John J. Abel (autor del epígrafe que encabeza el artículo), bioquímico eminente y famoso desde 1899 por el descubrimiento de la epinefrina y después (1913-1929) por sus estudios sobre las hormonas hipofisarias. Allí publicó un “Estudio comparativo de la cantidad de histamina en los lóbulos anterior y posterior de la hipófisis, previos a la putrefacción” y, en colaboración con el Dr. P.L. Lamson, otro sobre el “Papel del hígado como órgano regulador del volumen sanguíneo”.

En 1922 emigró a México y formó parte del grupo primigenio de investigadores en el recién instalado Instituto de Higiene, así como en la Dirección de Zootecnia y Ganadería. Su trabajo sobre las “Constantes fisiológicas del cuyo en el Valle de México” y los estudios bromatológicos de innumerables alimentos mexicanos fue la base de la que derivaron las primeras tablas sobre la constitución de los alimentos que forman la dieta del pueblo mexicano y, también, de los estudios orientados sobre la nutrición animal.

En esa época se fundaron los primeros Institutos de Investigación y el Dr. Juan Roca Olivé fue de los

maestros originales del Instituto de Biología, bajo la dirección del Dr. Isaac Ochoterena y después, del Dr. Roberto LLamas.

En la Escuela Nacional de Medicina de la U.N.A.M. fue nombrado Ayudante de Prácticas de Química Médica en 1923 y ascendió a Profesor de la misma materia.

En 1933, el ilustre maestro Dr. Ignacio Chávez, Director de la Escuela Nacional de Medicina implantó reformas revolucionarias de los planes de estudios, que cambiaron la enseñanza de la medicina, de la forma verbalista y clínica a la manera francesa, por la moderna científico-experimental, que estaba apenas en consolidación en Europa y Norteamérica.

Los relucientes laboratorios, magníficos en su tiempo, carecían de personal docente con los conocimientos teóricos, entonces en embrión. No pasó desapercibida para el maestro Chávez la oportunidad de contar con la colaboración del Dr. Juan Roca Olivé, al que confió la organización del neonato Departamento de Bioquímica, cargo que ejerció hasta su jubilación en 1959, ya después del traslado a la nueva sede de la Ciudad Universitaria.

Entonces el currículo vigente separaba la cátedra teórica de Química Médica de las Prácticas de Laboratorio de Química Médica, cuyas instalaciones amplias y bien dotadas del instrumental clásico era dirigido por el Dr. Juan Roca Olivé. Excelente maestro, de probada bonhomía con autoridades, profesores y estudiantes. Autor de "Prácticas de Química Médica" (1a. y 2a. ed. 1934 y 1936) que servía de Manual de Laboratorio y fueron, sin duda, los primeros textos de Bioquímica moderna editados en México.

En el siglo XX, la Bioquímica floreció explosivamente. El desarrollo ocurrió con rapidez en muchos frentes; desde el punto de vista médico, la comprensión de los requerimientos nutritivos fue

de gran importancia. El Dr. Roca, con sus estudios bromatológicos y sobre vitaminas, que trató de aislar del maíz y del pulque, ya tenía la habilidad técnica para la investigación moderna y, en medio de la incompreensión y, a veces hasta la hostilidad, hizo gran esfuerzo para formar profesorado competente y para orientar la enseñanza de la Bioquímica en tal forma que, junto con la Fisiología fuera una de las bases de la medicina moderna.

Los profesores de Química Médica eran dos: mi maestro, el Dr. Andrés Martínez Solís, y el químico Rafael Illescas Frisbie. El primero ejercía la medicina clínica orientada a la tuberculosis y sus conocimientos de química eran escasos; el segundo, químico avezado, intentaba enseñar la materia a los futuros médicos, con ignorancia casi total de biología y fisiología. No es en su demérito decir que, ni uno ni otro dejaron huella del tema en los alumnos, mis coetáneos, algunos de los cuales llegaron a ser luminarias y maestros de nuevas generaciones, sin requerir su brillo los conocimientos de química, y que fueron un ejemplo negativo para los estudiantes de las nuevas generaciones, que no veían la justificación del esfuerzo para aprender la Bioquímica.

Ya en aquel tiempo, el Dr. Juan Roca iniciaba en México el empleo de la cromatografía y cuando se trasladó la Escuela de Medicina (1957) a la Ciudad Universitaria, el Dr. José Laguna y un grupo de bioquímicos de nuevo cuño, sobre las bases existentes, que se debieron en gran parte al Dr. Juan Roca, configuraron la enseñanza y la investigación de la Bioquímica en su forma presente. Y el Dr. Roca se jubiló, dejando el futuro del Departamento de Bioquímica en buena dirección.

En la actualidad, la ciencia de la Bioquímica se reconoce por todos como el lenguaje común de la Biología, y se ha adelantado mucho hacia la meta de interpretar todos los fenómenos biológicos en tér-

minos moleculares. El Dr. Juan Roca Olivé, sin duda alguna, contribuyó en forma relevante al progreso hacia esta meta.

¡Honor a quien honor merece!

DR. JUAN ROCA OLIVE (1890-1961)

Ciudad Universitaria, D.F.
Junio, 1990.

Dr. Gilberto Breña Villaseñor.
Profesor de Bioquímica.

EXAFS: VER EL ENTORNO DE LOS ATOMOS

Lagarde, P. (1986): Mundo Científico, 6(56): 336-343.

La cristalografía de rayos X ha aportado mucho para el entendimiento de la estructura tridimensional de los compuestos orgánicos e inorgánicos; su principio se basa en hacer incidir un haz de rayos X en cristales puros de estructura periódica, los cuales difractan dichos rayos de acuerdo con patrones característicos según la composición y ubicación de sus átomos, obteniéndose como resultado un patrón de difracción que revela (mediante un análisis numérico complejo) la estructura tridimensional promedio del cristal. Alrededor de 1930, se desarrollaron modificaciones de la cristalografía de rayos X para sentar las bases de lo que en la actualidad se conoce como "estructura fina de absorción de rayos X" o EXAFS (Extended X Ray Absorption Fine Structure). Esta técnica permite conocer el entorno local y selectivo de un átomo en un cristal, mediante la espectroscopía de absorción de rayos X.

El principio del EXAFS tiene su fundamento en la mecánica cuántica, en donde los electrones en los niveles de un átomo pueden absorber rayos X y quedar energizados, desplazándose desde un nivel de menor energía a uno de mayor energía, sin que dos electrones puedan ocupar el mismo estado cuántico al mismo tiempo (principio de exclusión de Pauli). El umbral está dado por la energía de los

fotones que inducen una transición más allá del estado máximo de excitación (estado Fermi) y que producen oscilaciones energéticas que se conocen como EXAFS.

Al considerar el estado inicial del electrón (en relación con el núcleo del átomo) y el estado final después de energizarse (en relación con su propagación en el medio), se llega a la definición del coeficiente de absorción. Cuando un átomo está libre en el espacio, el electrón energizado de las últimas órbitas se proyecta al medio; en cambio, cuando el átomo forma parte de una molécula, el electrón es retrodifundido por los átomos vecinos y como consecuencia, muestra oscilaciones en el coeficiente de absorción, de manera análoga a la interferencia que se produce en las ondas del agua al ser perturbada por un objeto sólido. Por lo tanto, la amplitud de la señal EXAFS es el recorrido libre de un electrón en un medio sólido, lo que le da la característica de ser **local**, y debido a que dos elementos diferentes tienen umbrales de absorción distintos, las señales son **específicas**.

El sistema EXAFS requiere de una fuente de energía suficientemente alta y variable para funcionar a manera de barrido, lo que se obtiene mediante la radiación sincrotrón: electrones o positrones que

maestros originales del Instituto de Biología, bajo la dirección del Dr. Isaac Ochoterena y después, del Dr. Roberto LLamas.

En la Escuela Nacional de Medicina de la U.N.A.M. fue nombrado Ayudante de Prácticas de Química Médica en 1923 y ascendió a Profesor de la misma materia.

En 1933, el ilustre maestro Dr. Ignacio Chávez, Director de la Escuela Nacional de Medicina implantó reformas revolucionarias de los planes de estudios, que cambiaron la enseñanza de la medicina, de la forma verbalista y clínica a la manera francesa, por la moderna científico-experimental, que estaba apenas en consolidación en Europa y Norteamérica.

Los relucientes laboratorios, magníficos en su tiempo, carecían de personal docente con los conocimientos teóricos, entonces en embrión. No pasó desapercibida para el maestro Chávez la oportunidad de contar con la colaboración del Dr. Juan Roca Olivé, al que confió la organización del neonato Departamento de Bioquímica, cargo que ejerció hasta su jubilación en 1959, ya después del traslado a la nueva sede de la Ciudad Universitaria.

Entonces el currículo vigente separaba la cátedra teórica de Química Médica de las Prácticas de Laboratorio de Química Médica, cuyas instalaciones amplias y bien dotadas del instrumental clásico era dirigido por el Dr. Juan Roca Olivé. Excelente maestro, de probada bonhomía con autoridades, profesores y estudiantes. Autor de "Prácticas de Química Médica" (1a. y 2a. ed. 1934 y 1936) que servía de Manual de Laboratorio y fueron, sin duda, los primeros textos de Bioquímica moderna editados en México.

En el siglo XX, la Bioquímica floreció explosivamente. El desarrollo ocurrió con rapidez en muchos frentes; desde el punto de vista médico, la comprensión de los requerimientos nutritivos fue

de gran importancia. El Dr. Roca, con sus estudios bromatológicos y sobre vitaminas, que trató de aislar del maíz y del pulque, ya tenía la habilidad técnica para la investigación moderna y, en medio de la incompreensión y, a veces hasta la hostilidad, hizo gran esfuerzo para formar profesorado competente y para orientar la enseñanza de la Bioquímica en tal forma que, junto con la Fisiología fuera una de las bases de la medicina moderna.

Los profesores de Química Médica eran dos: mi maestro, el Dr. Andrés Martínez Solís, y el químico Rafael Illescas Frisbie. El primero ejercía la medicina clínica orientada a la tuberculosis y sus conocimientos de química eran escasos; el segundo, químico avezado, intentaba enseñar la materia a los futuros médicos, con ignorancia casi total de biología y fisiología. No es en su demérito decir que, ni uno ni otro dejaron huella del tema en los alumnos, mis coetáneos, algunos de los cuales llegaron a ser luminarias y maestros de nuevas generaciones, sin requerir su brillo los conocimientos de química, y que fueron un ejemplo negativo para los estudiantes de las nuevas generaciones, que no veían la justificación del esfuerzo para aprender la Bioquímica.

Ya en aquel tiempo, el Dr. Juan Roca iniciaba en México el empleo de la cromatografía y cuando se trasladó la Escuela de Medicina (1957) a la Ciudad Universitaria, el Dr. José Laguna y un grupo de bioquímicos de nuevo cuño, sobre las bases existentes, que se debieron en gran parte al Dr. Juan Roca, configuraron la enseñanza y la investigación de la Bioquímica en su forma presente. Y el Dr. Roca se jubiló, dejando el futuro del Departamento de Bioquímica en buena dirección.

En la actualidad, la ciencia de la Bioquímica se reconoce por todos como el lenguaje común de la Biología, y se ha adelantado mucho hacia la meta de interpretar todos los fenómenos biológicos en tér-

se aceleran a la velocidad de la luz (en este estado muestran efectos relativistas). Los fotones se envían mediante un monocromador hacia los detectores con la muestra; estos detectores son cámaras de ionización: la primera se encuentra antes de la muestra y la segunda, después de ella, de tal manera que es posible medir la energía que incide y la que se transmite. Al variar la longitud de onda, modificando la posición del monocromador, se obtiene un espectro de absorción de la muestra. La representación gráfica y el procesamiento de los resultados se obtiene por una computadora que se acopla al sistema.

De esta manera ha sido posible conocer con gran detalle el ambiente en el que se encuentran determinados átomos en una molécula, por ejemplo, en el

caso de aquellas proteínas que contienen átomos metálicos como el hierro, el cobre o el molibdeno, y cuya función es esencial para los seres vivos: la manera en cómo se modifica el hierro al fijar el oxígeno y cómo influye el ambiente que le rodea en este proceso, o de igual manera la fijación y reducción posterior del nitrógeno por el molibdeno de la nitrogenasa. Técnicas como el EXAFS dan un panorama más dinámico de la estructura y función de las biomoléculas.

Raúl Arredondo Peter.
Departamento de Microbiología.
Instituto de Fisiología Celular, U.N.A.M.
Comentarista.

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 albanenc 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.