

BEB 94

BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA

VOL. 13

No. 3

SEPTIEMBRE 1994

EDITORIAL

LA EVALUACION DOCENTE EN BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR

Aproximación a la utilización de la literatura científica

En general, el método ideal para la evaluación de los conocimientos adquiridos por un estudiante sería la evaluación continuada a través de un seguimiento periódico de su rendimiento a lo largo del curso, aunque esto está claramente limitado en la universidad por razones evidentes debido a la alta población de estudiantes.

El proceso de evaluación es una parte integral y casi fundamental del proceso educativo, aunque el concepto de examen puede presentar algunas consecuencias negativas pues para el estudiante constituye, en la mayor parte de los casos, el único y exclusivo objetivo de la asignatura, que se traduce en una nota o calificación que en el mundo competitivo en el que nos movemos actualmente puede tener gran trascendencia.

Los criterios generales para realizar la evaluación de los conocimientos adquiridos, se deben basar en plantear las pruebas de manera adecuada para poder juzgar si un estudiante ha obtenido la formación necesaria en los

temas que han constituido el curso. Se deben plantear, además, con el fin de estimular la capacidad de raciocinio del alumno así como su capacidad para relacionar diversos conceptos, dejando la medida de la información memorizada relegada a una dimensión justa. Esto se logra fundamentalmente al estructurar las pruebas mediante supuestos teóricos con su aplicación práctica.

Al evaluar la adquisición de destreza experimental se puede tener en cuenta el conocimiento de conceptos prácticos así como la capacidad del alumno para llevar a cabo una prueba experimental que se le pueda proponer.

Es importante, por otro lado, establecer la frecuencia del proceso evaluador. No es aconsejable un gran número de pruebas ni tampoco una sola al final del curso. Un término medio de evaluación trimestral o

Pasa a la pág. 75

COMITE EDITORIAL

EDITOR FUNDADOR

ENRIQUE PIÑA GARZA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

EDITORES

GUILLERMO CARVAJAL SANDOVAL

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
Instituto Politécnico Nacional

ALBERTO HUBERMAN WAJSMAN

Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán"

JAIME MAS OLIVA

Facultad de Medicina e Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

YOLANDA SALDAÑA DE DELGADILLO

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

SERGIO SANCHEZ ESQUIVEL

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

EDITOR EN JEFE

JESUS MANUEL LEON CAZARES

Instituto de Fisiología Celular y Facultad de Ciencias
Universidad Nacional Autónoma de México

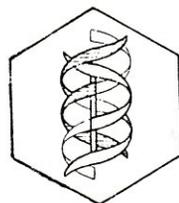
APOYO SECRETARIAL

ELISA MORA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México



Facultad de Medicina,
UNAM



Asociación Mexicana de
Profesores de Bioquímica, A.C.

INDICE

BEB 94 Vol. 13 Núm. 3 Septiembre de 1994

EDITORIAL

**LA EVALUACION DOCENTE EN BIOQUIMICA
Y BIOLOGIA MOLECULAR**

Aproximación a la utilización de la literatura científica
Antonio Liras 73

ARTICULOS

RADICALES LIBRES: IMPACTO MEDICO

José Carlos García Piñero, Bárbara García Triana,
Ma Antonia Morín Suárez, Ela M Céspedes
Miranda, Sonia Clapes Hernández y Simplicio
Olembe Etienne 77

**EL METODO PROBLEMICO EN BIOQUIMICA
(CON BASE EN LA RESOLUCION DE
PROBLEMAS): EXPERIENCIA EN LA CARRERA
DE LICENCIATURA EN ENFERMERIA**

Agustín Vicedo Tomey y Rolando A Hernández
Fernández 82

**TOXICIDAD DEL OXIGENO: PAPEL DE LOS
RADICALES LIBRES EN LA PEROXIDACION
DE LOS LIPIDOS**

Martha Zentella de Piña, Sergio Corona García
y Yolanda Saldaña Balmori 87

OTRAS COMUNICACIONES

LOS AFORTUNADOS

Jesús Manuel León Cázares y
María Teresa Elizabeth Flores Rodríguez 94

LINUS CARL PAULING, 1901 A 1994

Jesús Manuel León Cázares y
María Teresa Elizabeth Flores Rodríguez 95

DE NUESTROS LECTORES 99

Guillermo Carvajal Sandoval
Ma. Teresa Tusié y Alejandro Zentella
Leonor Fernández Rivera-Río

**INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES
DEL BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA 100**

BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA (BEB), publicación trimestral de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, AC. Correspondencia: Comité Editorial, Apartado Postal 70-281, Coyoacán, CP 04510 México, D F. Certificados de: Licitud de Título No 6703; Licitud de Contenido No 6989; No de expediente 1/432"92"/8443; Reserva al título en derecho de autor No 6703. Impresa en los talleres Editorial Uno, SA de CV, 1er Retorno de Corregio No 12, México 03720 DF; tiraje 1,500 ejemplares.

LA EVALUACION...

cuatrimestral parece lo más adecuado, ya que de esta forma se habrán asimilado una serie de conceptos suficientemente relacionados entre sí que permita su evaluación conjunta. De esta forma se logra un objetivo importante del proceso evaluador, como es la interrelación de conceptos recibidos y la integración de conocimientos.

En función de los objetivos generales y específicos que las disciplinas de bioquímica y biología molecular persiguen, los criterios de evaluación se pueden establecer a tres niveles: i) La adquisición de información por el estudiante, mediante la evaluación por pruebas de hechos; ii) Relación, integración y comprensión de los conceptos fundamentales, con base en la información recibida, a través de pruebas de conceptos y iii) Resolución de cuestiones teórico-prácticas y práctico-experimentales en función del fin último de la docencia de la bioquímica y la biología molecular que es la aplicación de los conceptos teóricos a problemas reales y concretos.

Las **pruebas escritas** constituyen la forma más utilizada para la evaluación, en función del gran número de estudiantes por sala docente, pudiendo plantearse de formas muy variadas, por ejemplo, las *pruebas de composición*, en que se plantea al estudiante un tema o una pregunta más o menos amplia, como la regulación de la glucólisis y gluconeogénesis, para que éste exprese sus conocimientos o realice una crítica señalando similitudes y diferencias. Otro tipo de evaluación escrita, quizás aún más objetiva, puede ser el planteamiento de *cuestiones concretas* en que se pueden solicitar definiciones, resolución de problemas, fórmulas o conceptos puntuales como, por ejemplo, comentar brevemente el modelo quimiosmótico que podría explicar la fosforilación oxidativa.

En general, la evaluación mediante pruebas objetivas, método cada vez más popular en función de la mayor demanda de objetividad de la evaluación, planteando cuestiones con una o varias respuestas únicas, exige un planteamiento cuidadoso de las pruebas para evitar errores y ambigüedades, proponiendo, por ejemplo,

pruebas de integración de conocimientos, en que se deben interrelacionar un gran número de conceptos. Este tipo de evaluación se puede aplicar de forma especial a la evaluación de los temas referentes al metabolismo en que los conceptos están muy relacionados entre sí.

El **examen oral** puede tener muchas ventajas pero también muchos inconvenientes. La gran ventaja es la alta versatilidad al poderse evaluar la consecución de la mayoría de los objetivos docentes, preguntando incluso al estudiante sobre su propia respuesta para evaluar de forma más precisa su grado de conocimiento. Otra ventaja es la gran interacción directa entre estudiante y profesor que no se puede lograr con otro tipo de prueba.

Los dos inconvenientes importantes de las pruebas orales son por una parte el requerimiento de una mayor cantidad de tiempo y por la otra parte la falta de objetividad que pueden conllevar en función de que el estudiante puede verse influenciado o condicionado por otros factores ajenos al propio conocimiento de la asignatura. Pueden ser de utilidad en aquellos casos en que es necesario adoptar una decisión en cuanto a una calificación final ya sea para ofrecer la posibilidad de superar la asignatura o bien de alcanzar una calificación máxima.

Las pruebas **práctico-experimentales** se pueden utilizar en la evaluación de los conocimientos teóricos o en la evaluación de la adquisición de destreza experimental y orientarse en el planteamiento de cuestiones *teórico-prácticas* en que se evalúa principalmente la aplicación de conceptos teóricos a casos prácticos; pruebas de *discusión de datos experimentales* en forma de figuras o tablas que el alumno debe explicar y después extraer, a partir de éstos, unas conclusiones; pruebas en las que el estudiante deba *elaborar protocolos experimentales* o utilizar determinados datos para el cálculo de algún parámetro, por ejemplo, dados los datos de purificación de una enzima y los valores de actividad en función de la concentración de sustrato, calcular las veces de purificación y los valores de V_{max} y K_m ; *pruebas experimentales propiamente dichas* de laboratorio en que se puede plantear al alumno la obtención de un determinado dato mediante la

LA EVALUACION...

realización de una prueba experimental en el aula-taller laboratorio, por ejemplo, determinar la glucemia en un suero y, por último, *cuestiones videoinformáticas* en relación a videos mostrados, manejo de programas de computadora o bien evaluación a través de bancos de preguntas, en que se puede incluso llevar a cabo una autoevaluación por el propio estudiante.

Englobando todos estos tipos de evaluación más o menos clásicos, se puede acudir, para la evaluación de los conocimientos adquiridos en bioquímica y biología molecular, a la utilización de la **literatura científica** más reciente de estas disciplinas. Aunque estos métodos de evaluación todavía no están ampliamente adoptados, pueden representar una alternativa interesante ya que se puede llevar a cabo el proceso de evaluación con problemas y casos concretos de investigación en estas áreas, entresacando de una determinada publicación científica, aún a costa de un mayor esfuerzo del profesor, los datos experimentales que allí se ofrezcan en forma de tablas o figuras y planteando de forma razonada a los estudiantes cuestiones de tipo teórico o práctico de cálculo, que estén de acuerdo con los conocimientos explicados en las clases teóricas y prácticas.

La gran ventaja de este tipo de evaluación es que se realiza de forma real con problemas y datos reales de investigación reciente y, por otra parte, se hace contactar al estudiante con el mundo de la investigación relacionada con la disciplina que debe aprender y superar, haciendo, además, que el propio estudiante correlacione conceptos generales y evite un estudio fraccionado y seccionado de la asignatura.

Sobre los resultados de la evaluación, aunque es de sobra conocido que el alumno, en general, organiza su estudio y preparación de la asignatura con vistas a superar el proceso evaluador o bien a alcanzar una calificación más sobresaliente, el profesor de universidad debe esforzarse y dirigir sus empeños para hacer cumplir los objetivos que se han establecido para la docencia de la asignatura. El éxito educativo se conseguirá cuando los esfuerzos del

estudiante por conseguir unos buenos resultados en la evaluación se correspondan con los objetivos establecidos por el profesor.

Por último, y también dentro del aspecto del proceso de evaluación, se debe intentar una revisión racional de las pruebas de forma conjunta entre estudiantes y profesor. La idea de revisión de exámenes siguiendo las directrices del propio proyecto docente, es que debe ser conjunta en grupo con los propios estudiantes que tienen verdadero interés en comprobar su actuación en las pruebas, siempre y cuando el número de estos lo permita (no más de 20). Aunque el mayor inconveniente es la posibilidad de comparación entre ellos mismos y las calificaciones que han obtenido, ésto se puede obviar, en gran medida, si los criterios de calificación se basan en la máxima objetividad. Este sistema de revisiones puede presentar determinadas ventajas que pueden superar el inconveniente anteriormente comentado, como son la aclaración de dudas de forma conjunta, así como el afianciamiento de conceptos, la discusión en grupo sobre un determinado examen o respuesta y una toma de decisión de consenso entre todos, fomentando aún más, si cabe, la objetividad del proceso evaluador.

La evaluación, en fin, en el ámbito universitario y en disciplinas eminentemente experimentales como son la bioquímica y la biología molecular, es un proceso altamente complejo y a la vez responsable y necesario, y debe perseguir un alto grado de objetividad, claridad y racionalidad, con el objeto fundamental de ofrecer una valoración de los conocimientos reales del estudiante y de su capacidad de aplicación de los mismos a problemas concretos de la propia realidad de estas dos disciplinas.

Sólo de esta forma, la universidad podrá ofrecer, confiadamente, profesionales aptos para la satisfacción de las necesidades que demanda la sociedad en los distintos ámbitos del mundo laboral.

Antonio Liras
Centro de Biología Molecular
"Severo Ochoa"
Universidad Autónoma de Madrid, España.

RADICALES LIBRES: IMPACTO MEDICO

García Piñeiro, JC; García Triana, B; Morín Suárez, Ma A; Céspedes Miranda, EM; Clapes Hernández, S; Olembe Etienne, S. Laboratorio de Radicales Libres, Instituto de Ciencias Básicas "Victoria de Girón"; Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana; MINSAP. 146 #3102, Playa 11600, La Habana, Cuba. E-MAIL: jcarlos&giron.infomed.cu, FAX:(5)37-336257.

RESUMEN

La participación de los RADICALES LIBRES (RL) en un número cada día creciente de patologías de gran interés médico-social, hacen que el tema amerite un tratamiento diferenciado que iniciamos con este artículo que ubica los aspectos conceptuales vinculados con los mecanismos de generación de las Especies Reactivas del Oxígeno y su consecuencia a nivel molecular por su acción en lípidos, proteínas y ácidos nucleicos.

A su vez, abordamos la expresión de éstos desde el punto de vista etiopatogénico, vinculados con la generación de biomoléculas mediadoras de su acción y repercusión a nivel celular.

Se discuten los fenómenos relacionados con el daño celular y se ubican los principales mecanismos de defensa que actúan como barreras fisiológicas.

PALABRAS CLAVE: Radicales libres; superóxido dismutasa; catalasa; lipoperóxidos.

ABSTRACT

There is evidence that free radical damage contributes to the aetiology of many chronic health problems. We begin by introducing some concepts associated with reactive oxygen species and their consequences at molecular level, in particular with biomolecules related with their action and its role at cellular level.

Also, we address some of the diseases states associated with increased oxidative stress from endogenous sources and the most important antioxidant barriers and its role in protection against amplification of certain disease processes.

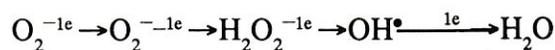
KEY WORDS: Free radical, reactive oxygen species, superoxide dismutases, lipoperoxides, antioxidant.

INTRODUCCION

La sangre, fluido biológico compuesto por eritrocitos, leucocitos y plaquetas como elementos celulares, cumple entre otras, con la importante función de transporte de oxígeno desde los pulmones hasta los tejidos donde este oxígeno actúa como sustrato en diversas reacciones bioquímicas intracelulares, y como resultado se desencadena una gran producción de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y anión superóxido (O_2^-).

En determinadas circunstancias, cuando estos radicales se producen por la presencia de agentes externos, como por ejemplo, bacterias, se origina un desequilibrio entre su formación y su destrucción, a pesar de que la mayor parte de las veces el cuerpo humano utiliza potentes mecanismos para evitar la acumulación de estas especies reactivas del oxígeno (ERO) y proteger a las células del efecto destructivo de éstas.

Los intermediarios reactivos que se pueden generar por reducción parcial del oxígeno molecular son (1):



A continuación relacionamos, a modo de ejemplo, algunas de las ERO y RL asociados así como su correspondiente vida media:

RADICAL:	VIDA MEDIA:
-SUPEROXIDO: $O_2^{\bullet-}$	DEPENDE DE ENZIMAS
-PEROXIDO DE HIDROGENO: H_2O_2	DEPENDE DE ENZIMAS
-HIDROXILO: $\bullet OH$	$10^{-9}s$
-PEROXILO: ROO^{\bullet}	7s
-SEMIQUINONA: Q^{\bullet}	DIAS
-OXIDO NITRICO: NO^{\bullet}	1 a 10s
-PEROXINITRITO: $ONOO^{\bullet}$	0.05 a 1s

A pesar de que el radical superóxido tiene una reactividad limitada en medio acuoso, es un agente tóxico potencial. En primer lugar porque puede difundir a distancias relativamente grandes y encontrar las condiciones propicias para su acción. En segundo lugar, porque puede dar lugar a la aparición de agentes más reactivos como el radical hidroxilo (OH^\cdot). Este es altamente electrofílico y capaz de reaccionar con casi todos los sustratos orgánicos (2, 3).

Una de las principales fuentes de $\text{O}_2^{\cdot-}$, lo constituyen las reacciones catalizadas por la xantina oxidasa durante la vía degradativa de las bases purínicas (4, 5). También pueden generarse por la acción de la NADPH oxidasa de las células endoteliales de los capilares (2, 6). Se ha estimado además, que aproximadamente el 2% del oxígeno consumido por las mitocondrias cardíacas, es convertido en $\text{O}_2^{\cdot-}$. Esto ocurre fundamentalmente por autooxidación de la CoQH^\cdot (ubisemiquinona) en la cadena transportadora de electrones (7).

Por su potencial efecto destructivo, los radicales libres generados en condiciones fisiológicas en muchas partes de las células, son controlados por mecanismos protectores estrictos (7, 8).

Los principales componentes de estos mecanismos de defensa antioxidante son:

1. Barreras fisiológicas que confronta el oxígeno a su paso desde el aire inspirado hasta las células.
2. Enzimas como las superóxido dismutasas (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa, glutatión reductasa y sistemas regeneradores del NADPH.
3. Niveles tisulares adecuados de compuestos antioxidantes como vitamina E, selenio, aminoácidos sulfurados y vitamina C.
4. Transportadores de metales como la transferrina y la ceruloplasmina.

Se puede entonces señalar que las enzimas protectoras parecen designadas en principio para destruir rápidamente, y mantener los niveles tisulares de sus sustratos en proporciones no dañinas al hombre.

Si el balance entre la formación de radicales libres y los mecanismos de defensa se altera, por incremen-

to de lo primero o debilitamiento de lo segundo, los radicales inducen racciones en cadena, que pueden dañar moléculas de gran importancia biológica (8).

Las proteínas pueden ser atacadas a nivel de sus aminoácidos susceptibles: cistina, cisteína, histidina, metionina, triptofano y tirosina. Los efectos fundamentales son:

1. Alteración directa de la estructura y la función.
2. Aceleración de la proteólisis endógena selectiva.
3. Incremento de la función enzimática (activación).

También de manera indirecta, los radicales pueden afectar procesos como la síntesis de proteína, al actuar sobre la cadena del DNA que codifica la información correspondiente a esa proteína (2).

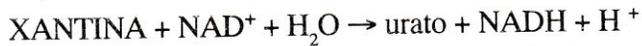
En los lípidos provocan la peroxidación lipídica. Esta se produce, por ataque oxidante a los ácidos grasos insaturados, ya sean de los fosfolípidos de la membrana celular y orgánulos subcelulares o los que circulan en sangre unidos a las lipoproteínas o a la albúmina. Así, puede iniciarse una cascada compleja de fenómenos que conducen a la formación de:

- Reactivos oxidantes inestables (alquilradicales R^\cdot) peroxirradicales (ROO^\cdot) y oxígeno singulete (O_2^\cdot).
- Subproductos tóxicos de larga duración como hidroperóxidos (ROOH) y aldehídos.
- Mediadores de procesos inflamatorios (4-hidroxi-alquenos de cadena larga) (2, 9).

De aquí se desprende que el efecto de un agente oxidante o grupo de agentes oxidantes sobre un sistema celular puede realizar un ataque concertado sobre lípidos, proteínas, DNA, RNA, que conduce a esquemas de reacción solapados y divergentes que modifican simultáneamente varias funciones celulares (2).

Sin embargo, en condiciones de hipoxia celular podemos generalizar que el tejido u órgano isquémico responde metabólicamente de varias formas: se incrementa la glucólisis anaerobia, lo que provoca aumento de la producción de lactato y por ende acidosis, comienza a disminuir la concentración intracelular del ATP, ocurre acumulación intracelular del ADP, que se transforma en AMP, y este a su vez se desamina a IMP por acción de la adenilato

desaminasa. El IMP es precursor de la hipoxantina (Hx), por lo que finalmente hay un aumento de la concentración de Hx y xantina (X) como respuesta a la hipoxia (5). Por otra parte se ha comprobado que cuando se produce isquemia y/o daño celular, la enzima que oxida a la Hx y a la X pasa de su forma dehidrogenasa que utiliza el NAD^+ como aceptor electrónico:



a su forma oxidasa, que transfiere directamente los electrones al O_2 , lo cual produce el aumento de O_2^- y H_2O_2 .

Hemos comprobado experimentalmente que esta vía metabólica se estimula rápidamente en condiciones de hipoxia y que tiene estrecha relación con el daño endotelial, pues es la fuente principal de generación de especies reactivas del oxígeno (10, 11).

Pero además de esta vía presente en el endotelio vascular de la región afectada y aún en las propias células del parénquima, existe también otra fuente de radicales libres que está íntimamente ligada al endotelio: las células del sistema retículo endotelial (SRE) local. La respuesta de estas células es muy diversa:

- se activa la generación de RL, a través de la NADPH-oxidasa, enzima asociada a la membrana de los leucocitos polimorfonucleares (LPMNs), cuyo mecanismo de activación no está del todo establecido (12), planteándose que:
- se activa la síntesis del leucotrieno B_4 (LtB_4),
- comienza la síntesis de CD11/CD18, moléculas que median la adhesión de LPMNs al endotelio vascular. Esta síntesis parece estar mediada por el aumento en la producción de RL ya que en modelos experimentales se ha comprobado que el pretratamiento de los LPMNs con un complejo SOD/CAT y/o alopurinol se logró eliminar en éstas la síntesis de LtB_4 (13). Así mismo se han obtenido otros resultados que indican que esta molécula media también la migración y diapédesis de los LPMNs al endotelio vascular (14). Una vez ocurrida la adherencia de los LPMNs al endotelio se crea un microambiente entre estas dos células. En este microambiente las proteasas y los RL derivados de

los LPMNs actúan sinérgicamente en la superficie endotelial produciendo el daño al estimular la formación de comunicaciones intercelulares que producen aumento de la permeabilidad endotelial (11). Además también se puede producir agregación neutrófilo-neutrófilo que produce obstrucción de las vénulas postcapilares, aumentando el daño que se está generando.

Además de la producción de RL, los LPMNs y el endotelio activado originan agentes proinflamatorios como son:

-Los metabolitos del ácido araquidónico (AA): prostanoïdes (vía de la ciclooxigenasa) y los leucotrienos (vía de la 5-lipoxigenasa), factor activador de plaquetas (PAF) (11) y la interleucina-1 (IL-1) (8, 5), que también tienen importancia considerable en la evolución del proceso.

Los metabolitos del AA como las prostaglandinas (PGs), tromboxanos (Txs) y leucotrienos (Lts), tienen efectos complejos y diversos:

- TxA_2 , TxB_2 , PGF_2 : efecto vasoconstrictor (12).
- TxA_2 , LtB_4 : median el daño endotelial (11, 12).
- PGE_2 , PgI_2 : efecto vasodilatador (12).
- PGE_2 : inhibe la secreción de IL-1, TNF-s (factores de necrosis tumoral), IL-2 (interleucina-2) (12).
- PGI_2 : conocido efecto antiagregante plaquetario (14).

La generación de RL por las células endoteliales y las del SRE de la región afectada, daña estas células y las células vecinas. Las membranas biológicas por su carácter hidrofóbico y el alto contenido de ácidos grasos polinsaturados (PUFA) son el sustrato idóneo para el ataque de los RL (12). Así pues, una vez que tiene lugar un aumento de la producción de RL, casi inmediatamente comienza la peroxidación lipídica, proceso que se inicia con el ataque de los RL a los átomos de hidrógeno de los grupos metilenos de los PUFA que forman las membranas generándose los radicales lipídicos: R, que reaccionan fácilmente con el O_2 dando entonces los peroxi-radicales o endoperóxidos: ROO, los que continúan la reacción en cadena que caracteriza a la peroxidación lipídica, reaccionando con otro PUFA, para dar un nuevo endoperóxido y transformarse en hidroperóxido: ROOH, que se descompone fácilmente en otros RL sobre todo en presencia de metales de transición

(12). Tanto los radicales lipídicos como los endoperóxidos pueden sufrir conjugación de sus dobles enlaces transformándose en dienos conjugados (12). Además de los R, ROO, ROOH y los dienos conjugados, la peroxidación lipídica produce malondialdehído (MDA). Todos estos productos se denominan genéricamente **lipoperoxidos (LPx)** y su detección se realiza mediante su reacción con el ácido tiobarbitúrico (TBA) (12). En 1982 se demostró que el MDA es el producto mayoritario en los LPx, demostrándose además, que el ácido araquidónico es el sustrato principal de la peroxidación lipídica (12) y que la peroxidación del mismo incrementa o potencia la agregación plaquetaria, lo cual según algunos investigadores se debe a que la existencia de altos niveles de lípidos totales en plasma, inhibe la sintasa de PGI₂, lo que ocasiona que el metabolismo del ácido araquidónico se desvíe hacia la formación de tromboxanos y leucotrienos, potenciando de esta forma la agregación plaquetaria (13). Además de tener tal efecto en el metabolismo del AA, la peroxidación lipídica es un factor determinante en el mecanismo del daño panendotelial ya que la existencia de LPx en las membranas celulares produce modificaciones de las proteínas asociadas a las mismas (enzimas, receptores, proteínas formadoras de canales) lo que provoca trastornos de los sistemas transportadores de membrana con aumento de la permeabilidad para algunos elementos como el Ca⁺⁺, produciendo activación de la fosfolipasa A₂ (PLA₂).

Por otra parte, este aumento de la permeabilidad de las membranas provoca fragilidad lisosomal y celular que finalmente conduce a la liberación de las enzimas lisosomales y citoplasmáticas al líquido intersticial (12).

Uno de estos productos lisosomales es la elastasa, enzima que existe en el plasma formando un complejo con el inhibidor de proteinasa-alfa-1. Su aumento es índice de la degranulación de los PMNs. Se ha encontrado aumento de los niveles séricos del complejo elastasa-inhibidor alfa-1 en casos de sepsis en humanos (trabajo en prensa).

Existen otras células del SRE que se activan rápidamente una vez que aparece el foco infeccioso primario. Estas son los macrófagos, monocitos y

linfocitos. Estas células activadas liberan un gran número de sustancias biológicamente activas entre las que se encuentran diversas formas reactivas del oxígeno y otros radicales libres. Entre estos productos están el H₂O₂, que interviene en la producción de daño oxidativo de agentes infecciosos, y el NO[•], que actúa en la vasodilatación que colabora a que los linfocitos pasen de la circulación al sitio de infección ayudando a la respuesta inflamatoria. Además de éstos, se secreta un grupo heterogéneo de productos protéicos llamados citocinas encargados de coordinar la respuesta inmunológica a la infección. Las citocinas evocan un gran número de respuestas en un diverso grupo de células induciendo cambios en la expresión de proteínas de superficie que favorecen la adhesión celular, la proliferación de células del sistema inmune y también pueden inducir la producción del NO[•] y el H₂O₂.

Entre las citoquinas más estudiadas están:

- factor de necrosis tumoral o caquectina (TNF)
- la interleucina-1 (IL-1)
- la interleucina-2 (IL-2)
- los interferones (IFN), principalmente el IFN gamma.

El TNF es reconocido como mediador primario de la respuesta del hospedero a la infección, con este se ha logrado reproducir en modelos experimentales las características del choque endotóxico. También se ha reportado que con el uso de anticuerpos monoclonales (MoAb) contra TNF se ha logrado controlar la sintomatología del choque y la mortalidad a causa de éste (12, 14).

El efecto más conocido del TNF es la activación de los LPMNs. De esta forma la IL-1 es liberada por macrófagos, monocitos y las células endoteliales activadas, y participa en la activación de linfocitos cd4+ y cd8+, así como de células B. Se conoce que los linfocitos cd4+ en estado de reposo tienen aproximadamente 100 receptores para IL-1, aumentando este número en estado activado. Una vez que ocurre la activación de los linfocitos cd4+, éstos comienzan a liberar IL-2 y a sintetizar receptores específicos para ésta, participando en la activación de células T y B, regulando la expansión de los clones de linfocitos cd4+ y cd8+. La liberación de la IL-2 en los linfocitos cd4+ está regulada por la concentración intracelular de Ca⁺⁺. Los linfocitos cd4+ producen

IFN- γ , potentes activadores de la capacidad citotóxica de macrófagos y monocitos. Esta red inmunológica se articula en respuesta al foco infeccioso primario y se intensifica en caso de que dicho foco se extienda a otros lugares del organismo, teniendo como resultado el aumento de la capacidad citotóxica de los neutrófilos, macrófagos y monocitos, significando que en estas células tiene lugar una activación de las vías que conducen a la formación de RL, convirtiéndose en mediadores del daño generalizado del endotelio.

Así, las diferentes formas de especies reactivas del oxígeno juegan un papel relevante en el desarrollo de

diversas enfermedades y procesos, (**Cáncer, Transplantes y Conservación de Organos, Inflamación, Enfermedad de Alzheimer y de Parkinson, Quemaduras**); en tanto en otros pueden estar implicados en la fisiopatología primaria (**Isquemia-Reperusión, Diabetes, Radiaciones**). Hay múltiples citas en la literatura del tema (1,4,5,8,12,13) en las que están involucrados los **Radicales Libres** en sus mecanismos etiopatogénicos y/o valorados en esquemas terapéuticos. Sobra señalar que con esta compacta aproximación a este interesante problema de las ciencias médicas contemporáneas sólo hemos tratado de generar la motivación, de hecho existente en muchos, para continuar el estudio de este apasionante tema.

REFERENCIAS

1. Sies H (1993) Strategies of antioxidant defense. *Eur J Biochem* 215: 213-219.
2. Weiss S (1986) Oxygen, ischemia and inflammation. *Acta Physiol Scand* 548: 9-37.
3. Flaherty JT y Weisfeldt ML (1988) Reperfusion injury. *Free Rad Biol Med* 5: 409-419.
4. Gómez C, García Piñero J C (1991) Xantina oxidasa. Protocolo de Tesis de Especialidad. Instituto Superior de Ciencias Médicas de la Habana, Cuba.
5. Prats Pérez P, García Piñero J C (1989) Evaluación de las concentraciones séricas de oxipurinas en recién nacidos con signos de hipoxia perinatal. Tesis de Especialidad. Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana, Cuba.
6. Cohen M S, Bradley E, Britigan D, Hassett J y Rosen G M (1988) Phagocytes, O_2 reduction, and hydroxyl radical. *Rev Infect Dis* 10: 1088-1096.
7. Sohal R S, Svensson I, Sohal B M y Brunk U T (1989) Superoxide anion radical production in different animal species. *Mech Ageing Dev* 49: 129-135.
8. García Triana B, García Piñero J C (1990) Purificación de la superóxido dismutasa de eritrocito de bovino. Tesis de Especialidad. Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana, Cuba.
9. Ward P A (1988) Oxygen radicals, inflammation and tissue injury. *Free Rad Biol Med* 5: 403-408.
10. Hoban L D, Paschall A J, Eckstein J (1991) Awake porcine model of intraperitoneal sepsis and altered oxygen utilization. *Circ Shock* 34: 252-62.
11. Meleski W J (1991) Sepsis: What it's and "how to recognize it". *Surg Clin N Amer* 71: No. 4 August.
12. Morin M A, García Piñero J C (1993) Indicadores bioquímicos relacionados con la acción de radicales libres en casos complicados de cirugía abdominal. Protocolo de Tesis de Especialidad. Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana, Cuba.
13. Leoper J (1991) Lipid Peroxidation and protective enzymes during myocardial infarction. *Clin Chim Acta* 196: 119-126.
14. Beutler B, Milsark I N, Cerami A C (1985) Passive immunization against cachectin/TNF protects mice from lethal effects of endotoxin. *Science* 229: 869-871.

EL METODO PROBLEMICO (CON BASE EN LA RESOLUCION DE PROBLEMAS) EN BIOQUIMICA: EXPERIENCIA EN LA CARRERA DE LICENCIATURA EN ENFERMERIA

Agustín Vicedo Tomey, Rolando A Hernández Fernández. Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón", Instituto Superior de Ciencias Médicas. La Habana, Cuba.

RESUMEN

El desarrollo de los Servicios Médicos en nuestro país puso de manifiesto la necesidad de elevar la calidad de los servicios de enfermería para lo cual se requería incrementar la capacitación científica del personal. Uno de los pasos dados fue la creación de la Licenciatura en Enfermería.

Al tomar en cuenta las dificultades con esta carrera, originadas por una parte por deficiencias en el programa y por otra por la actitud de los estudiantes, se decidió la elaboración de un nuevo plan de estudios para la disciplina de bioquímica. El mismo fue organizado sobre la base de solución de problemas porque esto permite incrementar la motivación, vincular la asignatura con el perfil del egresado, favorecer la actividad cognoscitiva independiente de los alumnos y lograr una visión más integral de los contenidos. Para ello fue necesario la derivación de objetivos, contenidos, métodos y medios, seleccionar y estructurar las situaciones problema, organizar la enseñanza en formas no tradicionales, definir el sistema de evaluación y preparar al personal docente. El curso se desarrolló inicialmente de forma experimental y los resultados alcanzados son altamente satisfactorios. No obstante se advirtieron algunas insuficiencias cuya eliminación contribuirá al perfeccionamiento del plan. En la actualidad el plan se encuentra en proceso de generalización al resto de los Centros de Educación Médica Superior del país.

PALABRAS CLAVE: Educación Bioquímica, Métodos de Enseñanza, Enseñanza Problémica.

ABSTRACT

The development of Health Services in our country

needs to increase the scientific and technical level of nurses. To face this problem the Higher Institute for Medical Science of Havana organized the career of Bachelor in Nursing.

Taking into account the difficulties with the former program of Biochemistry it was decided to design a complete new study program based on the solving-problem approach.

This method pursues to increase the students, activity and the motivational level because biochemical topics are related to the students future professional performance.

The planning work included most of the problems that must be faced in developing a course of learning: ie, clarification of objectives and content, selection of methods and media, the role of evaluation, selection of the correct clinical and epidemiological situations, the methodological structure of the classes, and the preparation of teachers.

The first course was carried out in an experimental way and results were highly satisfactory. Nevertheless, there are some aspects that need improvement. At present, the new program has been accepted and it is carried out by other institutes of medical sciences in the country.

KEY WORDS: Biochemical education, teaching methods, solving-problem teaching.

INTRODUCCION

La disciplina Bioquímica forma parte del plan de

estudio de la carrera de Licenciatura en Enfermería en el Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana. Originalmente los programas de las asignaturas se elaboraron por adaptación y modificación parcial de los de la carrera de Medicina. Pronto se pudo comprobar que esta decisión, aunque fácil, no tuvo en cuenta determinadas particularidades de la Licenciatura en Enfermería y se puso de manifiesto la inconformidad de alumnos y profesores.

Esta nueva situación planteó la necesidad de someter a una revisión crítica a fondo el programa vigente y tomar las medidas necesarias para su perfeccionamiento de acuerdo con las condiciones actuales.

En el departamento se posee cierta experiencia en la elaboración de planes de estudio, pues en 1985 se puso en práctica uno para la carrera de Medicina. En él se habían logrado avances en las concepciones pedagógicas con la definición de un sistema de objetivos, conocimientos, habilidades y generalizaciones (1, 2), que le dieron un impulso extraordinario al desarrollo de la didáctica especial de la disciplina.

No obstante se notaba una insatisfacción en lo que se refiere a métodos de enseñanza, desarrollo de las habilidades, formas de organización de la enseñanza y el logro de una mayor independencia cognoscitiva.

A la vez existían directivas de la Vice-Rectoría de desarrollo del Instituto orientadas a la confección de programas que plantearan formas activas para el aprendizaje, especialmente el sistema de solución de problemas (3).

Con todos estos elementos se emprendió la estructuración del nuevo plan de la disciplina en la carrera de Enfermería que constituye el contenido del presente trabajo.

DESARROLLO

El trabajo se desarrolló en cuatro etapas: diagnóstico, preparación, ejecución y análisis.

Diagnóstico

La primera etapa del trabajo consistió en la realización de un diagnóstico sobre las características positivas y negativas del programa vigente con el fin

de proceder a la optimización del plan de estudio.

Del análisis pormenorizado se pudo arribar a las siguientes conclusiones:

a) No existía especificidad en cuanto al tipo de profesional a formar pues se tomó como modelo el programa elaborado para la carrera de Medicina unos años antes.

b) No existía una adecuada articulación entre los objetivos y los contenidos del programa.

c) Faltó la elaboración de los materiales didáctico y de métodos complementarios al programa analítico tales como las guías de estudio y las orientaciones referentes a los métodos.

d) Se conservaron los métodos y formas tradicionales de organización de la enseñanza.

e) No se tuvieron en cuenta los niveles de desarrollo alcanzados en los programas de la carrera de Medicina en cuanto al sistema de conocimientos y habilidades ni a las directivas sobre la didáctica especial de la disciplina.

f) Se desarrollaba muy poco la vinculación entre la disciplina y el perfil del egresado.

g) No se tuvo presente el desarrollo pedagógico de los docentes que permitía abordar la disciplina desde una óptica más actual.

Al margen del plan de estudio existía una situación particular con los estudiantes que se manifestaba fundamentalmente en la falta de motivación, el bajo nivel de estudio y la pasividad en las actividades docentes; problemas todos que parecen ser bastante comunes en todas las latitudes en relación con la enseñanza de la bioquímica en las Ciencias de la Salud.

Todas estas consideraciones llevaron a la conclusión de que era imposible aplicar medidas remediales y lo que se imponía era la elaboración de un nuevo plan de estudio de la disciplina para la Licenciatura en Enfermería.

Preparación

La estrategia seguida en la preparación del plan puede resumirse en los siguientes pasos:

I. *Derivación del sistema de objetivos, contenidos, métodos y medios.*

La elaboración del plan de estudio de la disciplina

se hizo teniendo en cuenta simultáneamente el sistema de principios de la enseñanza (4) y el de las categorías didácticas (5) en su interrelación según ha sido propuesto por Babanski (6).

En la determinación de los objetivos se parte del principio de la dirección del proceso de enseñanza que implica el control del mismo (7), así como del principio de la relación de la enseñanza con la vida. La determinación y formulación de los objetivos van encaminados hacia el perfil del egresado tanto en su formación general como específica y es por ello que no se hace distinción entre objetivos educativos e instructivos pues ambos aspectos deben darse simultáneamente.

Los objetivos determinan el contenido pero éste debe responder al principio del carácter científico, entendido no sólo como la comprobación científica de todo lo que se enseña sino además, y principalmente, por la búsqueda del desarrollo en los estudiantes del pensamiento científico teórico. La vinculación básico clínica permite desarrollar la necesaria relación entre la teoría y la práctica. Los principios de la accesibilidad, sistematización y continuidad de la enseñanza, según la concepción de Davydov (8 y 9), sirven de base para la organización y ordenamiento del contenido.

Para la selección de las formas y métodos se tuvo en cuenta en primer lugar el principio del carácter conciente, activo e independiente de los alumnos (10). Esto sólo podía hacerse realidad si se organizaba la actividad cognoscitiva de los estudiantes de la forma más adecuada (11), por lo cual se decide estructurar el plan basado en el sistema de solución de problemas pues de esta forma se hace posible el cumplimiento, no sólo de estos principios, también de otros tan importantes en nuestro caso como el del estímulo y la motivación.

Para el desarrollo de estos métodos se emplearían todos los medios disponibles con lo cual se cumple el resto de los principios.

En la elaboración del programa se tomó en cuenta además el nivel científico y de método alcanzado por la disciplina en la confección del plan de estudios de Medicina, pero sólo como la referencia que consti-

tuye el obligado punto de partida para alcanzar una nueva etapa de desarrollo.

II. Selección de las situaciones problema. Definición de estructura y desarrollo.

Las situaciones problema fueron seleccionadas atendiendo a dos criterios fundamentales: aquellas que por su frecuente aparición en la práctica médica deben conocerse sólidamente y otras que, aunque menos frecuentes, pueden ilustrar adecuadamente aspectos importantes del contenido.

En líneas generales el método consiste en lo siguiente:

1. Todos los alumnos reciben un problema y deben trabajar en su solución de acuerdo con las orientaciones que éste contiene.

2. La solución del problema implica búsqueda activa, por los alumnos, de los conocimientos necesarios para su solución.

3. Una parte de los conocimientos se ofrece a los alumnos en la clase, fundamentalmente en las conferencias de orientación. Los contenidos seleccionados para ello son aquellos que: a) presentan un alto grado de dificultad para los alumnos y requieren de la explicación del profesor, b) las fuentes de información están muy dispersas y su búsqueda consumiría un tiempo excesivo a los estudiantes y c) la información no está al alcance de los estudiantes.

4. El resto deben los estudiantes buscarlo en los libros o consultar con expertos. Las fuentes pueden venir orientadas en las tareas o pueden dejarse a la libre elección de los estudiantes.

5. Se discute la solución del problema. Cada estudiante presenta un informe con la solución del problema. Algunos de ellos se discuten; los alumnos discuten los resultados de su compañero y evalúan su trabajo.

Para encausar la actividad del estudiante hacia la solución del problema éste presenta una estructura didáctica general (12), que puede resumirse en los siguientes aspectos:

Enunciado del Problema: Consistente en una breve descripción de un caso clínico hipotético donde se dan los datos necesarios para comenzar a resolver el problema.

Planteamiento: A continuación del enunciado

aparece un conjunto de interrogantes. Hallar las respuestas a las mismas constituye la solución del problema.

Tareas: La solución total del problema se divide en varios aspectos que constituyen soluciones parciales. Esas son las tareas.

Operaciones: Son las orientaciones de las acciones necesarias para la solución de la tarea.

Solución: Se alcanza con la interpretación integral de la situación problema.

La solución de cada problema consume de dos a cuatro semanas.

III. Selección de las formas de enseñanza.

Para organizar adecuadamente la actividad cognoscitiva de los alumnos era necesario el diseño de formas de organización de la enseñanza no tradicionales, que permitieran el cumplimiento de las metas trazadas. Es así que se diseñan nuestras dos formas básicas de trabajo: El encuentro orientador y el taller.

El encuentro orientador. Esta actividad tiene como objetivo fundamental dirigir a los estudiantes en el proceso de solución de los problemas.

En él se controla el grado de solución del problema, se sugiere bibliografía adicional, se presentan alternativas, se busca el grado de profundización necesaria y se explican los contenidos de mayor dificultad.

El taller. Tiene como objetivo fundamental organizar el trabajo de los estudiantes en el problema bajo la supervisión directa del profesor. En él:

1. Se propicia el estudio de aspectos determinados, tanto individual como colectivamente, bajo la guía del profesor.
2. Se realizan intercambios de conocimientos y procedimientos entre los estudiantes, sobre todo en las primeras etapas del curso.
3. Los alumnos consultan sus dificultades para la solución de los problemas.
4. Se realizan actividades prácticas por los propios estudiantes o a modo de demostración.

5. Se realizan análisis de la bibliografía general o especial.

6. Se realiza la discusión de los problemas resueltos.

Estas formas de organización de la enseñanza han demostrado su validez en la práctica para un plan estructurado sobre la base de la solución de problemas.

IV. Establecimiento del sistema de evaluación.

Se establece siguiendo la estructura del problema y el grado de desarrollo de los estudiantes. En los primeros problemas es necesario el control de las operaciones, más adelante el control se realiza a nivel de tarea y por último sólo al de la solución general (13). El ejercicio final de evaluación consiste en la solución de un problema de forma independiente por los alumnos.

V. Preparación del personal docente.

Para emprender el plan fue necesaria la preparación del personal docente, pues su función debía cambiar totalmente, dejando de ser un transmisor de información para convertirse en organizador y controlador de la actividad de los estudiantes (14). El profesor ya no es más el centro de la actividad docente pues éste pasa a los estudiantes. Para contribuir a ello, además de las Guías de Estudio, se elaboraron orientaciones detalladas para la ejecución del plan por parte de los profesores. Toda la documentación mencionada integra la parte fundamental del presente trabajo y se acompaña.

Ejecución.

El plan comenzó a ejecutarse de forma experimental en dos de las facultades de Ciencias Médicas de La Habana en el curso 1991-1992. Recibieron el nuevo plan ocho grupos de 30 alumnos del ICBP Victoria de Girón y cuatro del mismo tamaño del Hospital docente Calixto García lo que hizo un total de 360 alumnos del primer año de la Licenciatura en Enfermería.

Análisis.

Al culminar el primer curso completo de la disciplina se procedió, por el colectivo de profesores de la asignatura, a un profundo análisis de la ejecución del mismo tanto en los aspectos positivos como los

negativos. También se realizaron encuestas entre los grupos de estudiantes. Se logró un alto grado de satisfacción tanto por los profesores como por los alumnos. Se comprobó un incremento notable en la motivación, la dedicación al estudio y el aprovechamiento de los estudiantes que se reflejó en una elevada promoción. No obstante se pudo constatar que existían deficiencias propias de la primera ejecución del plan que de inmediato comenzaron a subsanarse y ponerse en práctica.

CONCLUSIONES

Después de haber desarrollado dos cursos con el nuevo plan se puede llegar a la conclusión que el mismo ha resuelto en grado apreciable las deficiencias encontradas en la etapa de diagnóstico. En la medida que el mismo vaya perfeccionándose -proceso que ya se ha iniciado- se espera lograr avances aún más sustanciales.

Se ha llegado a la conclusión que este programa supera al anterior porque:

a) Se tiene en cuenta el desarrollo actual de la disciplina en cuanto al grado de su profundización teórica y en su desarrollo didáctico y de método.

b) Centra su objetivo en la actividad del estudiante como única forma de contribuir al desarrollo de la actividad cognoscitiva independiente y el pensamiento creador.

c) Contiene aspectos específicos al tipo de profesional que se quiera formar.

d) Está organizado de forma que el profesor pueda guiar y controlar directamente el proceso de asimilación de los conocimientos, habilidades y hábitos por los estudiantes.

e) Logra un alto grado de motivación en los alumnos que tradicionalmente veían la asignatura desligada de sus intereses profesionales.

f) Permite que los estudiantes asimilen los contenidos relacionados a una situación concreta real, lo cual hace posible una visión más integradora del objeto de estudio que es altamente complejo.

La extensión del plan a otros centros de enseñanza médica superior permitirá una mejor valoración del mismo aunque los resultados obtenidos hasta este momento hacen prever que significará un importante paso de avance en el desarrollo de la enseñanza de la bioquímica para estudiantes de Ciencias de la Salud.

REFERENCIAS

1. Hernández R y Vicedo A (1991) Use of general principles in teaching Biochemistry. *Biochem Educ* 19:182.
2. Vicedo A y Hernández R (1990) El uso de generalizaciones en la enseñanza. *Mensaje Bioquímico*. Vol XIV. Gabriel Carrillo Santín, Sylvia E López Quintero, Ma Eugenia Salinas y Mejía, Guadalupe Maldonado Mercado y Juan C Díaz Zagoya (Eds), Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM, México, DF, pp 99-109.
3. Ilizástigui F (1992) Educación Médica y Necesidades de Salud de la Población. Publicación de la VRD del Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana, Cuba.
4. Klingber L (1978) Introducción a la didáctica General. Editorial Pueblo y Educación, La Habana, Cuba.
5. Labarrere Reyes G y Valdivia Pairol GE (1988) Pedagogía. Editorial Pueblo y Educación, La Habana, Cuba.
6. Babanski Yu K (1981) Optimización del Proceso de Enseñanza. Editorial Pueblo y Educación, La Habana, Cuba.
7. Talizina N (1988) Psicología de la Enseñanza. Editorial Progreso, Moscú, Rusia.
8. Davydov V V (1978) Tipos de Generalización en la Enseñanza. Editorial Pueblo y Educación, La Habana, Cuba.
9. Davydov V V (1988) La enseñanza escolar y el desarrollo psíquico. Editorial Progreso, Moscú, Rusia.
10. Danilov M A y Skatkin M N (1978) Didáctica de la Escuela Media. Editorial Pueblo y Educación, La Habana, Cuba.
11. Majmutov M I (1983) La enseñanza problemática. Editorial Pueblo y Educación, La Habana, Cuba.

12. Leontiev A N (1981) *Actividad, Conciencia, Personalidad*. Editorial Pueblo y Educación, La Habana, Cuba.
13. Talizina N (1985) *Conferencias sobre los fundamentos de la enseñanza en la Educación Superior*. DEPEs-UH,

La Habana, Cuba.

14. Vecino Alegret F (1986) *Algunas tendencias en el desarrollo de la educación superior en Cuba*. Editorial Pueblo y Educación, La Habana, Cuba.

TOXICIDAD DEL OXIGENO: PAPEL DE LOS RADICALES LIBRES EN LA PEROXIDACION DE LOS LIPIDOS

Martha Zentella de Piña, Sergio Corona García y Yolanda Saldaña Balmori. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México. Apdo Postal 70159, México, 04510, D F.

RESUMEN

En este trabajo se discuten los mecanismos bioquímicos básicos relacionados con el daño celular mediado por la presencia de radicales libres (RL) derivados del oxígeno. En la primera parte del trabajo, se define a los radicales libres y la manera en la que éstos se forman. Los RL derivados del oxígeno intervienen en varios procesos patológicos tales como las alteraciones celulares hepáticas, entre otras las inducidas por el consumo excesivo ya sea agudo o crónico, del etanol, en los que hay un aumento en la degradación oxidativa de los lípidos de las membranas o bien afectan a otros componentes celulares importantes como son las proteínas, los carbohidratos y el DNA.

PALABRAS CLAVE: Radicales libres, toxicidad del oxígeno, lipoperoxidación.

ABSTRACT

This work reviews the basic biochemical mechanisms of cell injury mediated by oxygen free radicals. The first part of this paper deals both with the nature and the formation of free radicals. Oxygen free radicals are involved in human diseases and pathological processes such as hepatic cell alteration due to acute or chronic excessive ethanol consumption. During this process oxidative degradation of membrane lipids is increased and other cellular elements such as proteins, carbohydrates or DNA result affected.

KEY WORDS: free radicals, oxygen toxicity, lipoperoxidation.

INTRODUCCION

Es por todos conocido que en los organismos aeróbicos el oxígeno es esencial en el mantenimiento de la vida y que su ausencia conduce rápidamente a la muerte. Por otro lado el oxígeno se ha usado desde hace mucho tiempo en la terapia de patologías e intoxicaciones que interfieren con los mecanismos de oxigenación normal de la sangre o de los tejidos, en donde la hipoxia en la mayoría de los casos, no es más que la manifestación de una enfermedad existente y la administración de oxígeno se emplea como una terapia temporal. Aunque el uso del oxígeno hiperbárico ha sido empleado como verdadero tratamiento farmacológico en casos de osteomielitis crónica, de osteorradionecrosis, en las intoxicaciones por monóxido de carbono y cianuro, en la esclerosis múltiple, en accidentes cerebro-vasculares, en trasplantes, en fracturas óseas, en anemia grave y en lepra; es hasta en fechas recientes cuando se ha planteado que la toxicidad del oxígeno en los pulmones y quizá en el sistema nervioso central, sea el resultado de un aumento en la presión parcial del oxígeno y no de un incremento en el contenido del oxígeno en la sangre. La toxicidad del oxígeno posiblemente es el resultado de la producción exagerada de especies muy reactivas como son los radicales libres: superóxido ($O_2^{\cdot-}$), los singuletes de oxígeno (1O_2), los radicales hidroxilo (OH^{\cdot}) y peróxido de

hidrógeno (H_2O_2), como fue postulado inicialmente por Turrens y colaboradores en 1982 (1) y reforzado por Fridovich en 1983 (2) en cuyos estudios proponen que el superóxido ($O_2^{\bullet-}$) es el principal responsable *in vivo* de los efectos tóxicos del oxígeno.

Hay datos experimentales cada vez más numerosos que indican que los mecanismos de daño tisular mediados por la presencia de los RL, contribuyen al establecimiento de una serie de enfermedades como son la aterosclerosis, la artritis reumatoide, la diabetes, la porfiria, el cáncer y el daño hepático entre otros. Todos estos padecimientos tienen en común que la generación de RL del oxígeno, rebasa la capacidad con la que cuenta la célula para eliminarlos dando lugar al proceso conocido como daño oxidativo.

La intención de este trabajo es, en una primera instancia, lograr un conocimiento básico sobre los radicales libres del oxígeno y saber como se forman, y en segunda conocer como afectan a las moléculas estructurales de las células y ocasionan un aumento en la degradación peroxidativa de los lípidos, aunque pueden también dañar a otros componentes celulares como son los carbohidratos, las proteínas o el DNA. La peroxidación de los lípidos (lipoperoxidación), parece ser el mecanismo más importante relacionado con el daño celular durante el consumo exagerado o crónico de bebidas alcohólicas (3).

¿QUE SON LOS RADICALES LIBRES?

Se ha definido a la unión covalente como la establecida entre dos átomos responsables de dar lugar, en este caso, a una molécula diatómica; esa unión se realiza entre dos electrones cada uno de ellos proveniente de los átomos que se unen; por ejemplo en la molécula HA (Ec 1), el enlace covalente se establece entre los dos componentes y cada uno aporta un electrón con un giro antiparalelo lo que ocasiona que el campo magnético que se genera por la rotación de uno, quede anulada por el giro del otro.



La unión establecida entre los átomos puede romperse de dos formas posibles:

-De una manera heterolítica (Ec 2) que da lugar a

iones, en la que uno de los componentes se lleva a los dos electrones de la unión y queda con carga negativa, mientras que el otro al ceder su electrón queda con carga positiva:



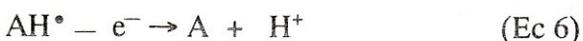
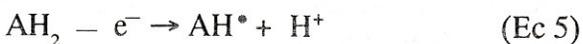
-De una manera homolítica (Ec 3) que produce un par de RL y es cuando cada uno de los elementos comprometidos con la unión emigra con su propio electrón:



Un RL es cualquier especie química ya sea atómica o molecular, capaz de existir independientemente y que contiene uno o más electrones desapareados. Ese o esos electrones generan un campo eléctrico que no es anulado, esto ocasiona que la especie química sea paramagnética y por ende altamente reactiva. Al tomar en cuenta esta definición de RL, se ha dicho que éstos existen como derivados de muchos elementos químicos y los que tienen más importancia desde el punto de vista de la biología son los derivados del hidrógeno, oxígeno, carbono y nitrógeno, así como los formados por los metales de transición cobre y hierro entre otros. Los RL pueden obtenerse por la ganancia de un electrón (Ec 4) por un no-radical, como por ejemplo cuando una molécula de oxígeno gana un electrón da lugar al radical libre superóxido:



También la pérdida de un electrón de un no-radical (Ec 5 y 6), como por ejemplo la oxidación del ácido ascórbico (AH_2) a su forma dehidrica (A), pasa por un intermediario que es un radical libre (AH^{\bullet}):



En ambos ejemplos los RL se forman fácilmente cuando se rompe una unión covalente, el electrón de cada uno de los componentes de ella permanece en su átomo; como ya se mencionó a este proceso se le conoce como ruptura homolítica y según algunos estudios recientes tiene suma importancia en el comienzo de la peroxidación de los lípidos (4). Ahora bien, la energía necesaria para llevar a cabo la ruptura homolítica de una unión covalente puede provenir del calor, de las radiaciones electromagnéticas, del ozono, de agentes tóxicos como es el caso de los inhalantes, solventes orgánicos y la ingesta de algunas drogas entre otras el etanol.

RADICALES LIBRES DEL OXIGENO

La molécula de oxígeno es un birradical pues tiene dos electrones desapareados, cada uno localizado en un orbital diferente y con su giro (spin) en la misma dirección ($\uparrow\uparrow$). Este arreglo molecular determina una menor habilidad del oxígeno para aceptar un par de electrones de otra molécula cuyos electrones periféricos se encuentran rotando con spin antiparalelo ($\uparrow\downarrow$), esto restringe las posibilidades de reducción del O_2 , las cuales tienden a llevarse a cabo mediante la aceptación de los electrones de uno en uno, lo que retarda las reacciones con especies no-radicales (Tabla I).

TABLA I

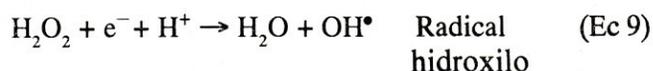
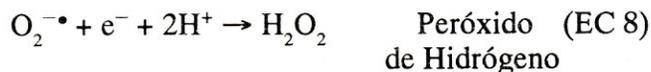
DISTRIBUCION ELECTRONICA EN EL ORBITAL PERIFERICO DE LAS DIFERENTES FORMAS DEL OXIGENO

Estado	Electrones periféricos		Reactividad
Oxígeno molecular	\uparrow	\uparrow	Baja
Singulete de oxígeno delta	$\uparrow\downarrow$		Alta
Radical Superóxido	$\uparrow\downarrow$	\uparrow	Baja
Ion peróxido	$\uparrow\downarrow$	$\uparrow\downarrow$	Baja
Singulete de oxígeno sigma	\uparrow	\downarrow	Muy alta

Tomada de (5)

Como se vio con anterioridad, los agentes que producen la generación de RL son, entre otros, las radiaciones ionizantes y los metales de transición; éstos se encuentran en el sitio activo de las enzimas del tipo de las oxigenasas y las oxidasas, enzimas que tienen la habilidad de facilitar los arreglos electrónicos que permiten la producción de los RL (6 y 7).

Por otro lado es muy importante mencionar que en el proceso de la fosforilación oxidativa realizada durante el metabolismo celular que conduce a la formación de agua (Ec 7 a Ec 11), se forman RL, mismos que son transformados gracias a la acción del sistema enzimático mitocondrial de la citocromo oxidasa, en colaboración con las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasa:

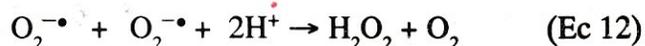


Reacción General:



Radical Superóxido

El radical superóxido es el producto de la incorporación de un electrón a una molécula de oxígeno. Se produce normalmente durante la fosforilación oxidativa por la acción de la superóxido dismutasa. Esta molécula, con la participación de un electrón y dos protones (Ec 8), da lugar al peróxido de hidrógeno. El superóxido por otro lado puede también producir peróxido de hidrógeno (Ec 12) y liberar oxígeno molecular por una reacción de dismutación:



Radical singulete

La reactividad del oxígeno también puede ser incrementada de otra manera. Durante el curso de

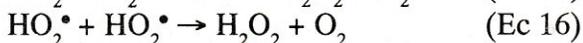
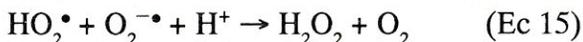
reacciones que permiten invertir la rotación de uno de los electrones solitarios de la molécula de oxígeno (Tabla I) y se obtiene como resultado al singulete ($^1\text{O}_2$), el cual tiene una alta reactividad, pues durante su formación hay liberación de las restricciones de la mecánica cuántica de la rotación. Por este proceso se pueden formar dos tipos de singulete: uno de vida media muy corta, el sigma ($^1\Sigma\text{gO}_2$) y otro de mayor importancia biológica debido a que tiene una vida media más larga, el delta ($^1\Delta\text{gO}_2$). En el singulete de oxígeno delta como se ve en la Tabla I, los electrones periféricos ocupan el mismo orbital y tienen rotación opuesta; uno de los mecanismos posibles para su formación requiere de la acción de la luz sobre el oxígeno molecular en presencia de un fotosintetizador. Por definición este singulete no es un RL, sin embargo, en los sistemas biológicos se comporta como tal por su alta reactividad.

Peróxido de Hidrógeno

Esta molécula no es un RL pero es el principal promotor del radical hidroxilo (OH^\bullet). Además de la reacción de dismutación ya discutida (Ec 8), en otra de las reacciones del superóxido se comporta en solución acuosa como base. Por lo tanto, es aceptor de protones (iones H^+). Cuando el superóxido acepta un protón (Ec 13) se forma el radical hidroperóxido (HO_2^\bullet) el cual puede disociarse para liberar nuevamente al protón. Aquí actúa como ácido:

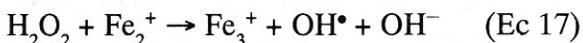


o bien para su transformación se pueden llevar a cabo cualquiera de las dos siguientes reacciones, dependiendo de la velocidad de reacción a la que ésta se realice:



Radical Hidroxilo.

La reacción en la que se forma el OH^\bullet , fue descrita inicialmente por Fenton en 1894 al hacer reaccionar hierro reducido en presencia de H_2O_2 :



En el mecanismo de la fosforilación oxidativa anteriormente descrito, el radical hidroxilo se obtiene por la reacción del peróxido de hidrógeno con un electrón y un protón (Ec 9); por otro lado la ruptura homolítica de los dos oxígenos del peróxido de hidrógeno da lugar a dos radicales hidroxilo. Esta ruptura puede ocurrir fácilmente por reacciones ionizantes o por calor:



El radical hidroxilo reacciona a una velocidad muy alta con casi todas las moléculas: azúcares, aminoácidos, fosfolípidos, ácidos nucleicos y ácidos orgánicos, permitiendo con ello que se formen RL de aquellas moléculas con las que reaccionó.

SISTEMAS DE PRODUCCION DE RADICALES LIBRES DEL OXIGENO

En el metabolismo aeróbico se aprovechan mejor los combustibles celulares; sin embargo el oxígeno se encuentra en todas las formas que se acaban de revisar y por su gran capacidad de reaccionar con las moléculas representa una entidad potencialmente tóxica para todas las formas de vida aeróbica. Este peligro se debe a los sistemas enzimáticos de los que están dotados ya que son capaces de formar RL del oxígeno, así como compuestos químicos y estructuras susceptibles de ser dañadas. En contraste con las bacterias obligatoriamente anaeróbicas, los organismos aeróbicos han desarrollado sistemas muy elaborados de protección, que funcionan como atrapadores de los RL para prevenir el daño que estos puedan producir.

Cuando ocurre el daño celular muy posiblemente se debe a que los sistemas de protección o son insuficientes o bien se encuentran deteriorados. Tal es el caso de algunas enfermedades, entre otras, el alcoholismo (8).

Las radiaciones ionizantes, los rayos X y los gamma, actúan sobre el agua generando RL. La luz de longitud de onda corta puede causar fotólisis de las uniones químicas y también producir RL; este último proceso parece tener importancia fundamental en la formación de cataratas (9). Algunos componentes de la atmósfera como son el ozono (O_3), el

monóxido y el dióxido de nitrógeno (NO y NO₂) pueden reaccionar con moléculas biológicas y formar RL (10). En el humo de las fogatas y del cigarro se encuentran altas concentraciones de RL (11).

SISTEMAS BIOLÓGICOS DE TRANSFORMACION DE RADICALES LIBRES

En el organismo, varias enzimas catalizan la reducción univalente del oxígeno para dar lugar al radical superóxido: xantina oxidasa, aldehído oxidasa, flavín deshidrogenasas, peroxidasas, etc. Además de la reducción univalente del oxígeno, hay también *in vivo* sistemas no enzimáticos que participan en dicho proceso como por ejemplo el par hidroquinona/semiquinona, así como durante las reacciones de autooxidación, que incluyen a las que están relacionadas con las catecolaminas, las flavinas y las ferredoxinas.

La reducción univalente del oxígeno también se produce por medio del sistema NADPH oxidasa, presente en la superficie de las células que participan en la reacción inflamatoria: neutrófilos, basófilos, eosinófilos y macrófagos. Estas células cuentan con un mecanismo de producción del radical superóxido por la explosión respiratoria, proceso importante en la defensa contra las bacterias invasoras.

La principal fuente de producción del peróxido de hidrógeno es la dismutación del radical superóxido, reacción intracelular catalizada por la superóxido dismutasa (1)(Ec 8). La reducción divalente del oxígeno molecular para formar peróxido de hidrógeno (Ec 12) ocurre en los peroxisomas, orgánulos celulares especializados y que poseen, entre otras enzimas, a las amino oxidasas.

Respecto al radical hidroxilo, las células no cuentan con sistemas enzimáticos para usarlo como sustrato, sino que, más bien, tienen mecanismos para prevenir su formación o para deshacerse del ya formado.

REACTIVIDAD DE LOS RADICALES LIBRES EN LOS SISTEMAS BIOLÓGICOS

Los RL por su reactividad existen en concentraciones muy bajas (10⁻⁴ a 10⁻⁹ M) y no viajan muy lejos del sitio donde se formaron. El radio promedio de acción del radical hidroxilo -el más reactivo- es de 30 angstroms y su vida media es de unos cuantos

microsegundos, de manera que un radical libre formado en la mitocondria es muy poco probable que tenga un efecto directo sobre otras partes de la célula. Los RL del oxígeno pueden actuar como agentes oxidantes y reductores. Cuando un RL reacciona con un compuesto no radical, pueden formarse otros RL ya que induce una reacción en cadena que amplifica el fenómeno miles de veces. Tal es el caso de la peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados que aunque el RL inicial produce sólo efectos locales, el radical secundario y los productos de la degradación oxidativa producen RL que pueden tener efectos a distancia del sitio donde se formó el primer RL. En general, cuando dos RL reaccionan entre sí, se forma una molécula estable y en el caso particular de la peroxidación de los lípidos es la manera como se da por terminada la reacción en cadena (Tabla II).

El radical superóxido no es una especie particularmente reactiva pero es potencialmente tóxica. Tiene un papel significativo en la homeostasis, pero su mayor importancia la tiene por la capacidad que presenta de llegar a producir el radical hidroxilo (Ec 8 y 9). El peróxido de hidrógeno tampoco es especialmente tóxico pero al atravesar las membranas celulares la situación cambia ya que el medio extracelular posee pocos mecanismos de defensa antioxidante y en presencia de huellas de metales de transición (hierro y cobre) se lleva a cabo la formación de radicales hidroxilo (Ec 17). El radical hidroxilo reacciona con gran facilidad con las moléculas biológicas vecinas, es por eso que puede dañar a las proteínas, causar rompimientos en las hélices del DNA e iniciar la lipoperoxidación. Es por ello que se le considera el agente más dañino.

¿QUE ES LA LIPOPEROXIDACION?

El mecanismo mejor conocido de daño en la membrana, es el inducido por los radicales libres denominado lipoperoxidación. Este camino fue propuesto inicialmente como el origen de la acumulación del pigmento lipofuscina en el envejecimiento. Un punto esencial de la lipoperoxidación es que los ácidos grasos no saturados al ser degradados por este mecanismo conducen, ya sea de una manera directa o indirecta, a la obtención del malondialdehído (MDA) como producto final, el cual es extremadamente reactivo con grupos amino provenientes de proteínas y da bases de Schiff que se pueden identi-

TABLA II

COMPUESTOS CELULARES ALTERADOS
POR LA ACCION DE LOS RADICALES
LIBRES DEL OXIGENO

LIPIDOS	Peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas plasmáticas de orgánulos.
PROTEINAS	Inactivación de enzimas que contienen grupos sulfhidrilo por oxidación de los mismos. Igual ocurre en las proteínas estructurales.
CARBOHIDRATOS	Despolimerización de polisacáridos.
ACIDOS NUCLEICOS	Hidroxilación de bases, entrecruzamientos, escisión de las bandas del DNA que causa mutaciones e inhibición de la síntesis de proteínas, nucleótidos y ácidos nucleicos.

ficar por su característica de exhibir fluorescencia. La lipoperoxidación aumenta la rigidez de la membrana y ésta puede disminuir la presencia de enzimas unidas a membrana y de receptores hormonales, es por eso que este fenómeno se ha identificado como el de mayor importancia en el daño membranar ya que altera las propiedades fisiológicas ya sea de fluidez, permeabilidad, transporte, etc, de la misma.

La lipoperoxidación es una reacción de autooxidación que puede ser iniciada por los radicales hidroxilo, los radicales hidroperoxilo, quizá también por el oxígeno singulete, pero no por radicales menos activos como son el superóxido y el peróxido de hidrógeno. El mecanismo de la lipoperoxidación, como se ha insistido, es el daño del que son objeto los ácidos grasos constituyentes de los fosfolípidos de la membrana y que al iniciarse por la acción de cualquiera de los agentes causales establece un daño generalizado ya que una molécula afectada, influye sobre la vecina y así sucesivamente, estableciéndose con ello una reacción en cadena.

El radical libre iniciador, que puede ser el OH^\bullet ,

remueve un átomo de hidrógeno de un metileno de la cadena hidrocarbonada de los ácidos grasos poliinsaturados (Fig 1, A). Esto conduce a que un electrón quede desapareado en el carbono de donde salió el hidrógeno, creando con ello a un radical de ácido graso (Fig 1, B). Este último realiza un rearrreglo molecular interno y forma un dieno conjugado (Fig 1, C), que a su vez reacciona con el oxígeno molecular y produce un radical lipoperoxilo (Fig1, D) capaz de sustraer un hidrógeno del ácido graso vecino para formar el hidroperoxido (Fig 1, E) y continuar la reacción en cadena hasta que eventualmente reaccionen dos radicales libres y con ello se llegue a la terminación del proceso (Ec 15 y 16). Una alternativa es que a partir del lipoperoxilo se formen los peróxidos cíclicos (Fig 1, F), los que pueden, por un lado, conducir a la formación de endoperóxidos cíclicos por la acción de la prostaglandina endoperóxido sintetasa (ciclooxigenasa) (Fig 1, G) y con esto se abre la posibilidad ya sea de dar lugar a prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos o bien de continuar hacia la vía de la degradación para dar lugar a la formación del malondialdehído (MDA) (Fig 1, H) entre otros productos terminales, como son varios aldehídos, algunos hidrocarburos como el etano y el pentano y otros residuos orgánicos. Estas

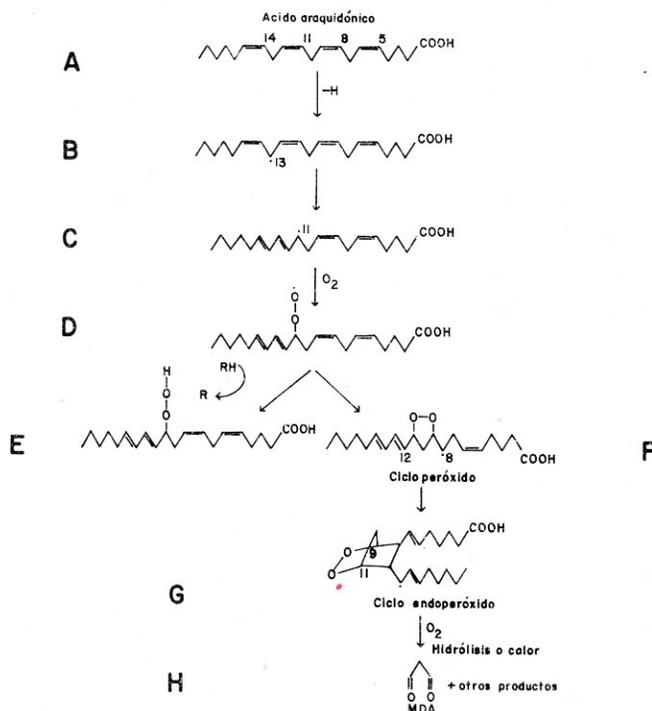


Figura 1. Lipoperoxidación del ácido araquidónico. (Modificada de la referencia 7).

sustancias pueden difundirse a cierta distancia del sitio de producción y originar edema celular y cambiar la permeabilidad vascular, producir inflamación y quimiotaxis. Además algunos pueden cambiar la actividad de la fosfolipasa e inducir la salida del ácido araquidónico y con ello conducir a la formación de prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos, algu-

nos de ellos mediadores de la inflamación. De esta manera la lipoperoxidación de los ácidos grasos poliinsaturados de los fosfolípidos de la membrana, al ser responsable de la pérdida de la fluidez, altera las funciones secretoras y los gradientes transmembranales de la membrana plasmática y las de los orgánulos celulares.

REFERENCIAS

1. Turrens J F, Freeman B A, Levitt J G y Crapo J D (1982) The effect of hyperoxia on superoxide production by lung submitochondrial particles. *Arch Biochem Biophys* 217: 401-410.
2. Fridovich I (1983) Superoxide radical: an endogenous toxicant. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 23: 239-257.
3. Diluzio N R (1966) Prevention of the acute ethanol-induced fatty liver by antioxidants. *Physiologist* 6: 169-178.
4. Dormandy T L (1969) Biological rancidification. *Lancet* 2: 684-688.
5. Halliwell B y Gutteridge J M C (1984) Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J* 219: 1-14.
6. Di Guiseppi J, Fridovich I (1984) The toxicology of molecular oxygen. *CRC Crit Rev Toxicol* 12: 315-342.
7. Gershman R, Gilbert D L, Neje S W, Daswayer P y Femn W O (1954) Oxygen poisoning and X-irradiation: a mechanism in common. *Science* 119: 623-626.
8. Zentella de Piña M, Saldaña-Balmori Y, Hernández-Tobías A y Piña E (1993) Nonsteroidal antiinflammatory drugs lower ethanol-mediated liver increase in lipids and thiobarbituric acid reactive substances. *Alcohol Clin Exp Res* 17 (6): 1228-1232.
9. Varma S D, Chand D, Sharma V R, Kuck J F Jr y Richards R D (1984) Oxidative stress in lens and cataract formation: Role of light and oxygen. *Curr Eye Res* 3: 35-57.
10. Pryor W A (1986) Oxy-radicals and related species: Their formation, lifetimes and reactions. *Ann Rev Physiol* 48: 657-667.
11. Pryor W A, Prier D G y Church D F (1983) Electron-spin resonance study of mainstream and sidestream cigarette smoke: Nature of the free radicals in gas-phase smoke and in cigarette tar. *Environ Health Perspect*, 47: 345-355.

LOS AFORTUNADOS

En una nota publicada en la sección *La Ciencia y el ciudadano*, en el *Scientific American* del mes de Mayo del presente año (Volumen 270, número 5, páginas 11 a 13), Tim Beardsley resume la información sobre varios casos de afectados por el virus *VIH* (*Virus de la Inmunodeficiencia Humana*), a quienes denomina "Los afortunados" pues no presentan los síntomas de la enfermedad.

Algunas de estas personas, tienen 10 años o más de haber sido diagnosticadas y sin embargo no han desarrollado la enfermedad, tal es el caso de Zoe Lorenz que hace 11 años se infectó y su sistema inmune aún funciona aparentemente bien, además de que tiene una hija de 4 años que es seronegativa. ¿Es posible que estos sobrevivientes posean algunas claves para la respuesta inmune o sean capaces de producir cambios en la bioquímica del *VIH*, que son críticas para conocer mejor el proceso y para diseñar estrategias para su combate?

En el Departamento de Salud Pública de la ciudad de San Francisco, California, USA, Susan P Buchbinder y sus colegas, han encontrado que uno de cada 12, es decir el 8%, de los hombres infectados desde hace más de diez años, tienen conteos de células *CD4*, los denominados linfocitos auxiliares, que se conservan por arriba de la mitad del promedio normal, mientras que en la mayoría de los enfermos estas células prácticamente han desaparecido. Los sobrevivientes, en comparación con los enfermos o incluso con personas no infectadas, también tienen un número mayor de células *CD8*, entre las que se incluye a las citotóxicas, que eliminan a las células infectadas por el *VIH*.

John L Sullivan, investigador de la Escuela de Medicina de la Universidad de Massachusetts y sus colaboradores, encontraron un fenómeno similar en el 80% de los niños de 5 o más años de edad, que fueron infectados con el *VIH* antes del nacimiento, los que presentan células T citotóxicas que reconocen a las proteínas del virus. Durante el primer año

de vida sólo un tercio de los infectados tienen esas células y Sullivan sospecha que los que no las tienen son los que no sobreviven a la infección por mucho tiempo.

También en Massachusetts, pero ahora en el Hospital General, el investigador Bruce D Walker y sus colegas, han detectado que las personas que han sobrevivido por más tiempo, tienen una respuesta vigorosa de las células T citotóxicas, que, según sus datos preliminares, parece estar dirigida hacia algunas regiones críticas para el funcionamiento del virus.

En la Universidad de Oxford, Andrew J McMichael ha encontrado que los pacientes que tienen una respuesta baja de las células T citotóxicas, están más graves que los que tienen una respuesta más cercana a la normal. Por lo general la actividad de estas células en presencia del *VIH*, es menor conforme avanza el tiempo de infección y se acerca a cero en los individuos que ya presentan la enfermedad.

Los investigadores todavía no están seguros del significado de estas observaciones. Aún no es posible llegar a conclusiones; según McMichael: "por el momento todo está a nivel de anécdota". Sin embargo esto a revivido la proposición hecha hace varios años por Gene M Shearer y Mario Cleric del Instituto Nacional del Cáncer, de los Estados Unidos de América, que propusieron que la respuesta inmune hacia el *VIH* tenía dos modalidades: la primera de tipo celular que puede eliminar a los virus y la segunda, de tipo humoral, que está asociada con el deterioro del paciente.

Estos investigadores han hecho pruebas en monos macacos infectados con el *VIS* (*Virus de la Inmunodeficiencia de los Simios*), a los que se han inyectado dosis muy bajas del virus, que no causan la infección, pero que estimulan la respuesta celular, pero no la producción de anticuerpos. Si por el contrario se inyectan dosis altas del *VIS* a monos no

inmunizados, se produce la respuesta humoral y la infección. También han observado que en recién nacidos y personal médico expuestos al VIH, pero que no se han infectado, se encuentra una respuesta celular específica, que reconoce al virus, aunque no tengan anticuerpos contra éste.

La mayoría de los investigadores están de acuerdo en que es muy pronto para confiar en estos datos y ponerlos en práctica. Sin embargo, Shearer ha sugerido, con base en su trabajo, que la vacunación con dosis bajas, que estimule la respuesta celular pero no la humoral, puede ser una vía que hay que estudiar más.

Las causas de la sobrevivencia de algunos pacientes con relación a otros tampoco están claras. Warner C Greene, del Instituto Gladstone de Virología e Inmunología, de la Universidad de California en San Francisco, California, USA, opina que los sobrevivientes no son todos iguales; algunos casi no tienen el virus, mientras que otros lo tienen en grandes cantidades. También hay indicios en el sentido de

que el virus pudiera cambiar hacia formas menos virulentas, como en el caso de algunos grupos de pacientes que se han infectado a partir de la misma fuente, en los que se ha encontrado que la enfermedad evoluciona de manera benigna. J Neil Simonsen, de la Universidad de Manitoba en Canadá, sugiere que puede existir cierta resistencia genética contra la infección, como la que tienen algunas mujeres africanas que han estado expuestas repetidamente al virus por más de dos años y no presentan los síntomas de la enfermedad.

Greene espera que el fenómeno de la sobrevivencia prolongada sea, desde el punto de vista biológico, significativo, pues según sus propias palabras: “*con sólo 14 a 15 años de epidemia, no podemos estar seguros de que estos pacientes no sean los extremos de la curva de distribución estadística*”.

Jesús Manuel León Cázares y María Teresa Elizabeth Flores Rodríguez, Instituto de Fisiología Celular y Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México.

LINUS CARL PAULING, 1901 A 1994

A la edad de 93 años, en Agosto pasado, en la localidad de Big Surf en California, USA, murió Linus Carl Pauling, quien según el Diccionario Chambers de Científicos (Millar D, Millar I, Millar J y Millar M, 1989, Chambers concise dictionary of scientists. W y R Chambers Ltd y The press syndicate of the University of Cambridge), es el más sobresaliente de los químicos del Siglo XX, quien desde los 15 años decidió que sería un Ingeniero Químico. Sus estudios los llevó a cabo en la Escuela de Agricultura de Oregon, USA, donde se distinguió en el Análisis Químico, lo suficiente como para que se le contratara para enseñar a los alumnos del primer grado. El doctorado lo obtuvo del Instituto Tecnológico de California (ITC), USA, con sus estudios de cristales con Rayos X, de donde desarrolló una forma para asignar tamaño a los átomos de un cristal, con estas dimensiones empezó a elaborar las estructuras de

muchos materiales, entre ellos, los silicatos y otros grupos de moléculas que hasta ese momento se habían considerado como estructuras misteriosas.

Después de obtener su doctorado en 1925, pasó dos años estudiando en Europa, principalmente en Alemania, con el físico Arnold Sommerfeld (1868 a 1951), quien modificó la teoría de Bohr de la estructura atómica, al reemplazar la idea de las órbitas circulares de los electrones, por las elípticas. Como resultado de su estancia posdoctoral, Pauling llevó a cabo el estudio exhaustivo del uso de la teoría cuántica en el entendimiento de las uniones químicas. En 1927 regresó al ITC lugar en que trabajó por 35 años, donde dirigió el laboratorio Gates y Crelling.

A principios de la década de 1930, desarrolló la idea de las *uniones de valencia*, por medio de

conceptos como la *hibridización* de las uniones y el de *resonancia*, lo que le permitió calcular la energía de los enlaces, longitudes y formas, así como sus propiedades magnéticas. También diseñó una escala de electronegatividad, con la que se puede predecir la fuerza de las uniones.

En esa misma década inició sus investigaciones sobre problemas bioquímicos, las que empezó con los estudios de las formas precisas de los aminoácidos y los péptidos, por medio de la difracción de los Rayos X. A partir de los resultados de estos trabajos, dedujo los dos modelos estructurales fundamentales de las proteínas: la hélice alfa y la lámina plegada. Otras de sus contribuciones en el campo de la bioquímica fueron las teorías sobre las bases químicas de la anestesia y la memoria. Además, en colaboración con Max Delbrück (1906 a 1981), estudió la estructura y acción de los anticuerpos, que los llevó a proponer lo que se conoce como la teoría instructiva de la síntesis de los anticuerpos, que considera al “*antígeno como molde*” del anticuerpo, en la que utilizó la idea de las “*estructuras complementarias por yuxtaposición*”. Esta última idea, junto con los conceptos de la estructura helicoidal y los puentes de hidrógeno, como características determinantes de la forma de las moléculas, son los aspectos fundamentales del modelo denominado de Watson y Crick, del ADN como una doble hélice autoduplicable.

En la década de 1940, propuso que la anemia falciforme era producida por el cambio de un solo aminoácido en la secuencia de la hemoglobina, idea que al comprobarse, constituyó el primer ejemplo de una enfermedad de origen génico.

En la década de 1970, sus trabajos sobre el efecto

de las dosis altas de vitamina C en la dieta sobre varias enfermedades, fue motivo de controversia y sus actitudes políticas como pacifista fueron causa de que se le retirara su pasaporte, por oponerse a las pruebas de armamentos nucleares.

En 1954 recibió, por sus trabajos sobre la naturaleza de los enlaces químicos, el premio Nobel de Química y en 1962, por sus actividades pacifistas, el premio Nobel de la Paz.

Para tener una idea de la importancia de sus aportaciones al entendimiento del fenómeno de la vida, se tomará el último párrafo del artículo que junto con Robert B Corey y Roger Hayward publicó en el volumen 191, número 1, páginas 51 a 59 del *Scientific American* correspondiente al mes de Julio de 1954: “*A través del desarrollo, durante el último cuarto de siglo, de las técnicas de microscopía electrónica y de difracción de Rayos X, el tiempo ha llegado cuando es posible seguir la estructura de los organismos vivos, a través de ordenes de tamaño cada vez más pequeños, sin interrupción, desde el animal completo hasta la célula y el átomo. Podemos esperar que el camino durante las décadas que vienen proveerán un entendimiento más preciso y penetrante de la vida, del que ahora tenemos*”. Es indudable que ese entendimiento que ahora se tiene, se debe en parte al trabajo pionero, la visión y dedicación de Linus Carl Pauling, el mejor químico de este Siglo.

Jesús Manuel León Cázares y María Teresa Elizabeth Flores Rodríguez, Instituto de Fisiología Celular y Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México.



DE NUESTROS LECTORES



María Teresa Tusié Luna y
Alejandro Zentella Dehesa:

En el BEB (Vol 13: No 1, página 3) se dice: "Un ejemplo de terapia génica es la introducción del gen de la adenosina desaminasa en pacientes con "Leish Nijan" que son deficientes en esta enzima".

La adenosina desaminasa se encuentra disminuída o ausente en el "Síndrome de inmunodeficiencia combinada" que se caracteriza por la disminución o ausencia de inmunidad humoral e inmunidad mediada por células y provoca infecciones recurrentes en los niños que nacen con este defecto.

La enfermedad de *Lesch-Nyhan* o "gota infantil" es un padecimiento automutilante de niños que carecen de la enzima "hipoxantina-guanina-fosforibosil-transferasa" (HGPR) y que conduce a la hiperuricemia.

Ruego a ustedes confirmen lo que arriba indico y de ser así, se señale la confusión en el siguiente número del BEB.

Los saluda afectuosamente su amigo

Guillermo Carvajal Sandoval
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas,
Instituto Politécnico Nacional e
Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias,
Secretaría de Salubridad y Asistencia.

Guillermo Carvajal Sandoval:

En respuesta a su carta en referencia a una confusión en nuestro editorial publicado en el Volumen 13 No 1 del BEB.

Agradecemos su oportuna aclaración con respecto al síndrome de inmunodeficiencia combinada, que es la patología humana asociada a la deficiencia de la enzima adenosina deaminasa. La identificación de esta deficiencia enzimática en células sanguíneas como un marcador genético asociado al síndrome de inmunodeficiencia combinada fue descrito por primera vez por Gilett E R y colaboradores (Lancet 2:1067-1069, 1972 y Am J Hum Genet 25:103-107).

Además de la deficiencia en la adenosina deaminasa, otras alteraciones en el metabolismo de purinas se encuentran asociadas a una disfunción inmunológica. Entre estas alteraciones metabólicas destaca la deficiencia

de fosforilasa de nucleótidos de purina (Lancet 1:1010-1013, 1975), asociada a un síndrome de inmunodeficiencia muy similar a la que resulta de la deficiencia de adenosina deaminasa.

Es interesante notar que la causa de este tipo de síndromes inmunológicos resulta de alteraciones en un solo gen, y que en ambos casos la deficiencia enzimática tiene un efecto particularmente nocivo sobre las células del sistema inmune. Es justamente por estas dos razones que tanto la deficiencia de la adenosina deaminasa como la de la fosforilasa de nucleótidos de purina son candidatos ideales para iniciar la terapia génica en humanos.

Atentamente

María Teresa Tusié.
Instituto de Investigaciones Biomédicas,
Universidad Nacional Autónoma de México.
Alejandro Zentella.
Instituto de Fisiología Celular,
Universidad Nacional Autónoma de México.

COMITE EDITORIAL

Presente.

La presente es para informar a ustedes que debido a un lamentable error, olvidé insertar los agradecimientos en el artículo "Elaboración de prototipos para el uso creativo de la computadora en la docencia de la bioquímica" publicado en el Boletín de Educación Bioquímica Vol 13, No 2, páginas 52-57, por lo que solicito a ustedes que en el siguiente número se publique lo siguiente:

Agradecimientos: Este trabajo fue apoyado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico en el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación y de Innovación Docente. Clave CD702592. La autora agradece al Centro de Investigación y Servicios Educativos de la UNAM, al Dr Manuel Alvarez Manilla, Ing Armando Reyes Gonzáles, Lic Ana María Bañuelos y al Dr Manuel Gándara, el apoyo brindado durante el desarrollo de este trabajo.

Agradezco a ustedes la atención a la presente

Atentamente

Leonor Fernández Rivera Río
Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina,
Universidad Nacional Autónoma de México.

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 los procesadores de textos "Word 5" o "Write", 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 en idioma español y un abstract en inglés, de más o menos diez renglones, que irán seguidos por conjuntos de tres a seis palabras clave.
- 3) Se sugiere un máximo de quince 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, Pearlmutter, 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 bien a través del corresponsal del BEB en su localidad.