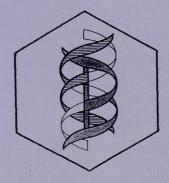
BEB 95

BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA



Organo de información de la ASOCIACION MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUIMICA, A C

Publicación incluida por el Centro de Información Científica y Humanística de la Universidad Nacional Autónoma de México en la base de datos **PERIODICA** (Indice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias).

COMITE EDITORIAL

EDITORES FUNDADORES

ENRIQUE PIÑA GARZA

Facultad de Medicina Universidad Nacional Autónoma de México

GUILLERMO CARVAJAL SANDOVAL

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias e Instituto Politécnico Nacional

EDITORES

EDMUNDO CHAVEZ COSIO

Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez"

ALBERTO HUBERMAN WAJSMAN

Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán"

JAIME MAS OLIVA

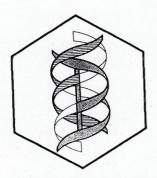
Facultad de Medicina e Instituto de Fisiología Celular Universidad Nacional Autónoma de México

FERNANDO MONTIEL AGUIRRE

Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina Universidad Nacional Autónoma de México



Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, AC ALEJANDRO ZENTELLA DEHESA

Instituto de Fisiología Celular Universidad Nacional Autónoma de México

EDITOR EN JEFE

JESUS MANUEL LEON CAZARES

Instituto de Fisiología Celular Universidad Nacional Autónoma de México

COORDINADOR DE CORRESPONSALES

SERGIO SANCHEZ ESQUIVEL

Instituto de Investigaciones Biomédicas Universidad Nacional Autónoma de México

EDITOR ASOCIADO

MA TERESA ELIZABETH FLORES RODRIGUEZ

Instituto de Fisiología Celular Universidad Nacional Autónoma de México

APOYO SECRETARIAL

ELISA MORA

Facultad de Medicina Universidad Nacional Autónoma de México



Facultad de Medicina, UNAM

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. Publicación incluida por el Centro de Información Científica y Humanística de la Universidad Nacional Autónoma de México en la base de datos PERIODICA (Indice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias). Impresa en los talleres Editorial Uno, SA de CV, 1er Retorno de Corregio No 12, México 03720 DF; tiraje 1,500 ejemplares.

EDITORIAL

LA SISTEMATIZACION DE LA INFORMACIÓN

A partir del volumen 12, número 1, 1993, el Boletín de Educación Bioquímica, BEB, forma parte de las publicaciones periódicas que se analizan para la producción de la base de datos bibliográfica Periódica (índice de revistas latinoamericanas en ciencias).

Las bases de datos e índices impresos son medios para almacenar y consultar la información, cada vez más abundante y específica; así, la sistematización de la información contenida en el Boletín, permitirá a los usuarios su recuperación precisa y oportuna.

Es un hecho hoy en día indiscutible, que el uso de la información forma parte del procedimiento necesario para seguir generando conocimiento sobre un tema preciso y que el permanecer actualizado incide en el avance de la ciencia para un desarrollo social, político y económico. Si bien en nuestra sociedad en general no existe aún un hábito y una necesidad por la información, debemos de sostener e incrementar el esfuerzo por fomentarlos.

La estructura de Periódica permite al usuario recuperar la información por distintos campos de la ficha bibliográfica, como son: número de registro, título, autor, palabra clave, keyword, institución, subdisciplina, revista, año de publicación, tipo de documento y código geográfico e idioma.

La búsqueda podrá hacerla en el índice impreso, en disco compacto o en línea, ya sea directamente con una cuenta o a través de Internet.

Así la diseminación de la información publicada abarcará ámbitos mayores y apoyará, estamos seguros, el desarrollo de la investigación científica y el conocimiento de los científicos que la habrán de producir.

Antonia Llorens Cruset Departamento de Bibliografía Latinoamericana Centro de Información Científica y Humanística Universidad Nacional Autónoma de México

Ala

NOTA: Con respecto al contenido del editorial y por considerarlo de interés para nuestros lectores, nos permitimos transcribir la siguiente comunicación:

CENTRO DE INFORMACION CIENTIFICA Y HUMANISTICA B I B L I O T E C A

Cd Universitaria, Circuito Exterior Apartado Postal 20-281 01000 México, D F

ASOCIACION MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUIMICA A C

At'n.: Prof Enrique Piña Garza Apdo Post 70-281 Coyoacán C P 04510 México, D F

Estimado Prof Piña:

Por medio de la presente, hacemos de su conocimiento que el Centro de Información Científica y Humanística (CICH) edita trimestralmente el Indice Bibliográfico Periódica (Indice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias) en el cual se analizan más de 1,200 títulos de revistas publicadas en Latinoamérica. Además de su forma impresa, el contenido de tan importante acervo se divulga también a través de nuestras Bases de Datos en línea y en CD-ROM con distribución nacional e internacional y se encuentra para su

consulta en nuestro Departamento de Biblioteca.

Su publicación BEB. Boletín de Educación Bioquímica, ha sido evaluada por el Comité de Selección de este Centro, siendo aceptada para su análisis e inclusión en el Indice, por lo que pedimos a usted, de la manera más atenta, su envío regular en calidad de donación.

En espera de una respuesta **favorable**, quedo de usted,

A t e n t a m e n t e
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd Universitaria, a 6 de febrero de 1995

Lic Rodolfo Luna Castellanos Jefe de la Sección Hemeroteca Latinoamérica-Biblioteca-CICH

PLEGAMIENTO DE PROTEINAS

Daniel Alejandro Fernández-Velasco. Departamento de Bioenergética, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México. Apartado Postal 70-243, México 04510, D F.

RESUMEN

La formación de la estructura biológicamente activa de las proteínas es generalmente una reacción espontánea, guiada por las diferencias en energía entre los confórmeros cinéticamente accesibles a la cadena. Al cambiar las condiciones del solvente, la mayor parte de las proteínas pequeñas muestran la propiedad intrínseca de modificar reversiblemente su conformación activa. A continuación se describe el plegamiento proteico en términos cinéticos y termodinámicos.

PALABRAS CLAVE: Plegamiento de proteínas, interacciones agua-proteína.

ABSTRACT

The formation of the native stucture of proteins is a spontaneous and reversible transition, driven by energy differences between the kinetically accesible states of the protein. By changing solvent conditions, most small proteins show the intrinsic ability to modify their active conformation. The thermodynamics and kinetics of this reaction are discussed.

KEY WORDS: Protein folding, water-protein interactions.

INTRODUCCION

Las cadenas polipeptídicas adoptan durante y después de su biosíntesis en los ribosomas, la estructura tridimensional que les permite llevar a cabo una función biológica específica. En el caso de las enzimas, la transformación y regulación de los metabolitos es posible debido a la estructura tridimensional específica de la proteína nativa y a los cambios conformacionales que ésta sufre durante el ciclo catalítico. Ciertos pasos del plegamiento son catalizados *in vivo* por enzimas como la peptidil prolil cis-trans isomerasa y la proteína isomerasa de disulfuros. Mientras que otro grupo de proteínas conocidas como chaperoninas, evitan la agregación irreversible de las proteínas durante condiciones

ambientales extremas. Existen por lo tanto, un gran número de factores que regulan el plegamiento *in vivo* (1). Sin embargo, la transición entre la conformación nativa y la desnaturalizada, puede llevarse a cabo *in vitro*. En proteínas pequeñas como la ribonucleasa, esta transición ocurre de manera autónoma, sin información adicional o entrada de energía. La adquisición y estabilidad de estas estructuras está entonces determinada por la secuencia lineal de aminoácidos y las condiciones del solvente (2). El mecanismo por el cual se adquiere la estructura nativa presenta muchas incógnitas. A continuación, se revisan las diferencias en energía y la ruta de plegamiento, con atención al papel del agua en el fenómeno.

DIFERENCIAS EN ENERGIA

Las pequeñas variaciones en las condiciones ambientales no perturban significativamente la estructura nativa de las proteínas. Sin embargo, si el cambio en alguna variable (temperatura, pH, presión o concentración de desnaturalizante) excede un valor crítico, la proteína se desnaturaliza cooperativamente. Las moléculas que no se encuentran en la conformación biológicamente activa, se degradadan fácilmente. En proteínas globulares pequeñas, la transición entre el estado nativo y el desnaturalizado es generalmente monofásica. Por diversos métodos se ha encontrado que en algunas proteínas la estructura y la función biológica cambian de manera simultánea; por lo tanto, al aumentar la condición desnaturalizante se modifica solamente la proporción entre proteínas en el estado nativo y en el estado desnaturalizado, sin la presencia significativa de estructuras intermedias estables. En términos termodinámicos (3), el plegamiento puede entonces ser descrito como la transición reversible entre dos estados: N (Nativo) y D (Desnaturalizado). Para un conjunto de condiciones ambientales definidas (temperatura, presión y concentración de solutos), es posible determinar la relación de estas dos poblaciones en el equilibrio:

$$K_{eq} = [N][D]^{-1}$$

Por tanto, a partir de la constante de equilibrio (K_{eq}) , es posible calcular la estabilidad de la conformación nativa, esto es, el trabajo necesario para la formación o ruptura de esta estructura, a partir de la diferencia en energía libre (ΔG^0) entre el estado nativo y el desnaturalizado (3).

$$\Delta G^0 = G_{Nat} - G_{Des} = -RTlnK_{eq}$$

Donde T es la temperatura absoluta y R es la constante de los gases ideales.

El estado desnaturalizado se define como el resultante del deterioro cooperativo y generalizado de la estructura nativa, sin cambios en la estructura covalente (a excepción de los puentes disulfuro). Esta definición no especifica las condiciones de desnaturalización. El \(\Delta G \) es una propiedad de estado, y por lo tanto, su valor es independiente de las variables que se utilicen para modificar la reacción, siempre y cuando el estado final (proteína nativa) y el estado inicial (proteína desnaturalizada) sean iguales en las diferentes condiciones. En la ribonucleasa T, se ha verificado que el ΔG obtenido mediante diferentes condiciones extremas de desnaturalización (temperatura y urea) muestra valores semejantes; por lo tanto los estados sin estructura definida producidos por diversos agentes desnaturalizantes, son termodinámicamente equivalentes. Esto no significa que las estructuras de los confórmeros producidos mediante extremos de temperatura o mediante diversos químicos sean iguales, de hecho, la cadena desdoblada puede unir con diferente afinidad y en distintas regiones, a diversos agentes desnaturalizantes; sin embargo, las diferencias en energía entre estos confórmeros son despreciables en relación a la diferencia de energías entre el estado nativo y el desnaturalizado (4).

Las diferencias en energía entre el estado nativo y el desnaturalizado se deben, a nivel molecular, al rearreglo no covalente de los átomos de la proteína y el solvente. Durante la desnaturalización tiene lugar la solvatación generalizada de la mayor parte de la molécula, mientras que durante el plegamiento, algunas interacciones solvente-proteína son remplazadas por interacciones intramoleculares. El número de confórmeros posibles en el estado desnaturalizado

es muy alto, por lo que el plegamiento a una conformación específica en el estado nativo, trae consigo un aumento en el orden del sistema; este aumento en las restricciones conformacionales, durante el plegamiento, origina una disminución en la entropía configuracional de la cadena polipeptídica como resultado del plegamiento ($S_{Conf.Nat} < S_{Conf.Desn}$; $\Delta S_{conf} < 0$).

En condiciones fisiológicas, el plegamiento es una reacción espontánea ($G_{Nat} < G_{Desn}$; $\Delta G < 0$). La disminución en la entropía de la cadena se opone al plegamiento ($\Delta G = \Delta H - T\Delta S$), donde ΔH es el cambio en entalpía, por lo tanto, los cambios desfavorables debidos a las restricciones conformacionales de la cadena se compensan energéticamente por las nuevas interacciones intraproteicas y la expulsión de las moléculas del solvente cuando se forma la estructura compacta. La diferencia de energías (\Delta G) resultante de las interacciones favorables y desfavorables es pequeña (entre -5 y -15 kcal mol⁻¹), equivalente a la energía requerida en la formación de una decena de puentes de hidrógeno o a la hidrólisis de una o dos moléculas de ATP. No está claro por qué las proteínas son marginalmente estables, ya que por mutagénesis dirigida o diseño de novo, es posible generar proteínas con un AG más negativo. Esta baja estabilidad pudiera facilitar su recambio.

El plegamiento es espontáneo y en algunos casos reversible. En estas condiciones, la transición entre estados está determinada por las diferencias de energía. Por lo tanto, al estudiar la estabilidad de la proteína como función de la temperatura o la presión, es posible determinar los parámetros termodinámicos que estabilizan al estado nativo y a partir de ellos determinar la naturaleza de las interacciones que modulan la reacción.

TEMPERATURA Y ESTABILIDAD

Los puentes de hidrógeno y el efecto hidrofóbico son las interacciones no covalentes dominantes en la estabilidad de las proteínas; sin embargo, la contribución relativa de estos dos factores en la estabilidad no es clara. Cada puente de hidrógeno contribuye con aproximadamente 1.3 (±0.6) kcal mol⁻¹ a la estabilidad de la estructura nativa (5). No existe consenso en cuanto a la magnitud del efecto hidrofóbico, el valor más aceptado es de 25 a 30 cal mol⁻¹ Å⁻² (6), aunque algunos estudios recientes por

mutagénesis dirigida muestran que este valor puede ser dos o tres veces mayor (7).

La capacidad calorífica a presión constante (Cp) determina la energía necesaria para aumentar la temperatura de una solución (Cp = $\delta H/\delta T$). Al analizar por calorimetría la energía necesaria para aumentar la temperatura de una solución con proteína, es posible determinar la diferencia en capacidad calorífica entre el estado nativo y el desnaturalizado (ΔCp). La ΔCp de desnaturalización es grande (aproximadamente 1.8 kcal mol⁻¹ K⁻¹) y proporcional al área hidrofóbica expuesta al solvente durante la desnaturalización. Al perder la estructura compacta, el interior no polar de la proteína se expone al solvente; en consecuencia las moléculas de agua se x estructuran de tal manera que solvatan a estos grupos, por lo que la mayor Cp en la proteína desnaturalizada refleja la energía extra que se requiere para romper la estructura del agua alrededor de los grupos no polares (3). La importancia de los aminoácidos no polares en la estabilidad, está basada x en la abundancia de grupos no polares en el interior de la proteína nativa y en las siguientes semejanzas entre la desnaturalización térmica y la transferencia de compuestos no polares al agua (1 y 3): 1) El ΔCp es elevado, por lo que H y S se modifican con la temperatura (Cp = $T\delta S/\delta T$). 2) El comportamiento de AG vs temperatura presenta un máximo, por lo que es posible desnaturalizar a las proteínas (o solubilizar grupos no polares) a temperaturas bajas y altas. 3) ΔHy ΔS obtenidos para diferentes proteínas (Mioglobina, Ribonucleasa A, Lisozima y Citocromo c) y diferentes compuestos no polares, convergen a temperaturas elevadas. Debido a estas similitudes, se han propuesto modelos en los que la dependencia con temperatura de la solvatación del interior no polar de la proteína, se compara con la transferencia al agua de cristales o líquidos no polares. Sin embargo, existe controversia entre los modelos presentados y en el papel de la hidratación en los parámetros termodinámicos mencionados (1 y 3). La magnitud del ΔCp, origina una variación en los componentes entrópico y entálpico de hasta 700 kcal mol-1 en el intervalo entre 0 y 100 °C. La variación en ambos componentes se compensa, por lo que la estabilidad marginal, resulta de la diferencia de energías de magnitud elevada que se originan de interacciones favorables y desfavorables. Esto complica la descomposición de la estabilidad en contribuciones

específicas. Por ejemplo, para una proteína como la lisozima, con -14 kcal mol⁻¹ de estabilidad neta, las interacciones favorables (polares y no polares) contribuyen con -198 kcal mol⁻¹, compensadas por 167 kcal mol⁻¹ debidas al aumento en la entropía conformacional de la cadena y 17 kcal mol⁻¹ de la solvatación de los grupos no polares en el estado desnaturalizado (1).

PRESION Y ESTABILIDAD

La estabilidad de las proteínas también se puede modificar al variar la presión. El cambio en la constante de equilibrio (K) al cambiar la presión (P), está dado por la diferencia en volumen entre reactivos y productos (ΔV), de acuerdo a:

 $\delta \ln K/\delta P = -\Delta V/RT$

La ruptura de los puentes de hidrógeno se acompaña de un pequeño cambio en el volumen del sistema, mientras que la disociación de un par iónico o la exposición de grupos hidrofóbicos al agua se ven favorecidos al aumentar la presión. Esto se debe a que al aumentar la densidad de las moléculas de agua en la vecindad de las cargas y/o grupos no polares expuestos, el volumen del sistema disminuye considerablemente. Las alteraciones en la actividad y/o estructura proteica producidas por presión son generalmente reversibles (8). En las proteínas monoméricas, se observan cambios estructurales a presiones cercanas a 1 kbar; a presiones mayores, la proteína se desnaturaliza. No se tiene información estructural detallada sobre el "estado desnaturalizado por presión". Sin embargo, existen pruebas que indican que al exponerse los aminoácidos aromáticos, aumenta el volumen hidrodinámico de la molécula, por lo que en términos generales la transición inducida por presión es semejante a la obtenida por el cambio en temperatura o adición de desnaturalizantes.

INTERMEDIARIOS ESTABLES

El plegamiento es generalmente un proceso de dos estados, en el que los estados intermedios son inestables en relación a los estados nativo o desnaturalizado. Las conformaciones parcialmente plegadas presentes al equilibrio, se han obtenido en pH ácido, entre 1 y 3, y fuerza iónica elevada, o a concentraciones de cloruro de guanidina cercanas a la transición nativo/desnaturalizado (9). Las estructuras que prevalecen son compactas, con cierta

estructura secundaria estable, sin interacciones terciarias fijas y con los grupos aromáticos expuestos al solvente. A este tipo de intermediarios se les aplica el nombre general de globulos fundidos (gf) (del inglés "molten globules"). En algunos casos, los elementos de estructura presentes en los gf son equivalentes a los encontrados en la estructura nativa, por lo que algunas de las interacciones que mantienen estables a estos intermediarios estabilizan también a las estructuras iniciales en el camino de plegamiento.

RUTAS EN LA FORMACION DE ESTRUCTURAS

Hasta ahora se ha analizado el plegamiento como la transición reversible entre estados, se ha prestado atención únicamente a las diferencias en energía entre ambos, sin tomar en cuenta el o los caminos seguidos por la proteína durante este proceso. El número de conformaciones que una cadena polipeptídica puede adoptar es astronómico, por lo que la adquisición de la estructura nativa por un mecanismo al azar, explorando todos los confórmeros posibles, tomaría un tiempo mayor que la edad del universo. A pesar de esto, las proteínas se pliegan en segundos. Esta observación, conocida como la paradoja de Levinthal, sugiere que existen rutas preferenciales. Esto es, de todos los estados posibles de la cadena, sólo son relevantes aquellos cinéticamente accesibles en la escala de tiempo del plegamiento. Las constantes de velocidad de estas transiciones determinan las barreras energéticas que separan a los diferentes confórmeros y por lo tanto determinan la secuencia de estructuras que forman la ruta hacia el estado nativo. El plegamiento generalmente ocurre en segundos, por lo que las estructuras formadas durante la renaturalización, son detectables solamente por espectroscopias de flujo detenido, o por experimentos de pulso e intercambio Deuterio/Hidrógeno (10).

Los datos experimentales sobre plegamiento, obtenidos por diversos métodos espectroscópicos, pueden resumirse de acuerdo a Matthews (11) en el siguiente esquema general: a partir de un gran ensamble de confórmeros altamente solvatados y sin estructura residual, en un tiempo menor a 5 ms, la proteína desnaturalizada se colapsa a formas más compactas con cierta estructura secundaria y algunos aminoácidos hidrofóbicos se excluyen del solvente;

la presencia de elementos de la estructura secundaria. propicia la asociación entre ellos o el colapso hidrofóbico. La siguiente etapa (de 5ms a 1s) puede mostrar más de un paso; en ella, se sigue desarrollando la estructura secundaria y algunos elementos de estructura terciaria presentes en la estructura nativa. El empaquetamiento de los elementos secundarios no es tan extenso como en la estructura nativa y los elementos estructurales en la superficie de la molécula (asas, así como α-hélices y hojas β) no se encuentran bien definidos; el ensamble de conformaciones presentes es menor que en la etapa anterior. La etapa final de plegamiento, corresponde a la formación concertada de las interacciones no covalentes que determinan el empaquetamiento presente en la estructura nativa. Esta etapa es la más lenta, el desarrollo progresivo de la estabilidad durante la reacción, sugiere que se requiere energía (20 a 30 kcal mol-1) para acceder al estado de transición que es limitante de la reacción. Las particularidades del mecanismo de plegamiento, se encuentran quizá no en los intermediarios por sí mismos, sino en las barreras energéticas que los separan.

PLEGAMIENTO DE OLIGOMEROS

Durante la formación de la estructura activa, algunas proteínas muestran la habilidad de unir con alta afinidad a otras moléculas. Como resultado de esta unión, se hacen posibles los cambios conformacionales requeridos para la adopción de una actividad biológica específica. La formación de la ultra-anatomía celular, esto es, la estructuración de orgánulos y complejos multiméricos en la célula está mediada por la interacción de proteínas con otras proteínas, grupos prostéticos, carbohidratos y lípidos. El ligando adecuado consta en ocasiones de una o más proteínas del mismo tipo o composición y tamaño variables. Buena parte de las reacciones catalizadas en la célula, son llevadas a cabo por proteínas oligoméricas. El plegamiento de estas proteínas es especialmente interesante, ya que en la gran mayoría, la función biológica está regulada por las interacciones cuaternarias. En la formación de oligómeros biológicamente activos, tienen lugar el plegamiento intramolecular y la asociación entre subunidades.

Ya que la velocidad de asociación depende de la concentración de proteína, esta variable permite determinar la naturaleza del paso limitante en la renaturalización. En la formación de dímeros y tetrámeros, es posible derivar esquemas cinéticos para determinar las constantes de velocidad de los diferentes pasos que intervienen en el proceso (12). Al seguir en paralelo estructura y función, es posible determinar: 1) La adquisición de estructura y/o actividad catalítica en las subunidades aisladas, así como la estabilidad de estos intermediarios. 2) La especificidad de la asociación y por último 3) El plegamiento y las consecuencias funcionales posteriores a la asociación.

En proteínas oligoméricas, es posible definir dos patrones generales de plegamiento. En el primer grupo, ejemplificado por la deshidrogenasa láctica, la aspartato transcarbamilasa, la triptofano sintasa, la fosfoglicerato mutasa y la malato deshidrogenasa, la velocidad de renaturalización está limitada por la asociación de los monómeros; ésta, puede llevarse a cabo en minutos u horas y compite con la agregación irreversible a estructuras no funcionales (12). Por otra parte, existen oligómeros, como la proteína trimérica "tailspike" y el represor de Arc, ambos del fago P22 (12 y 13), en los que la estructura terciaria está dada por interacciones entre subunidades; en estos casos, el plegamiento y la asociación son reacciones concertadas, por lo que no se presentan intermediarios monoméricos estables.

La estructura cuaternaria es más sensible a la presión que las estructuras secundaria y terciaria, por lo que las proteínas oligoméricas se disocian a presiones que generalmente no alteran la estructura secundaria y terciaria de los monómeros (13). En oligómeros formados por monómeros de bajo peso molecular, la integridad de la estructura terciaria, puede verse comprometida en ausencia de interacciones entre subunidades. En estos casos, los monómeros disociados por presión muestran características similares a las encontradas en estados intermediarios de plegamiento.

De manera análoga al aumento en la temperatura, el aumento en la presión modifica el equilibrio dímero-monómero. De la extrapolación a presión atmosférica de los valores de la constante de disociación dímero-monómero obtenida a diferentes presiones, es posible calcular la energía que mantiene unidas a las subunidades. Los datos experimentales de la variación con temperatura de la constante de

equilibrio, permiten calcular mediante la ecuación de van't Hoff, los componentes entrópico y el entálpico de la disociación. En los oligómeros estudiados a la fecha, el término entrópico es el dominante; éste se ha relacionado con la disminución en el volumen de las moléculas de agua que contactan a los grupos hidrofóbicos de la interfase expuestos durante la disociación (13).

CONTROL CINETICO Y TERMODINAMICO

Tanto las diferencias en energía como las barreras en la energía de activación determinan las concentraciones al equilibrio entre reactivos, intermediarios y productos. En soluciones acuosas, el plegamiento está generalmente bajo control termodinámico. Sin embargo, recientemente se encontró un bloqueo cinético en la renaturalización de la proteasa α -lítica (14). En este caso, un segmento de la proteína es capaz de aumentar la velocidad de renaturalización en 10^7 veces; en ausencia de esta región, la proteína madura es incapaz de plegarse a la conformación activa y de menor energía.

El plegamiento y la asociación son esencialmente reacciones de desolvatación. Durante el proceso, las moléculas de agua se excluyen de la vecindad de los aminoácidos no polares; estos últimos se empacan y forman una estructura compacta. El agua modula las diferencias en energía en el plegamiento ey la asociación debido a las diferencias en la magnitud de las interacciones agua-agua, agua-superficie no polar y superficie no polar-superficie no polar. En solución, el reacomodo de las moléculas de agua es un proceso rápido en comparación a la coalescencia de elementos de estructura secundaria o a la asociación de subunidades, por lo que la solvatación no parece limitar la cinética del proceso. Sin embargo, recientemente se encontró (15), que, además de las diferencias en energía, las barreras cinéticas que separan a los intermediarios en la renaturalización también están determinadas por el agua. Al modificar la cantidad de agua durante la renaturalización en sistemas de agua limitante, es posible atrapar un intermediario monomérico en el plegamiento de la enzima homodimérica triosafosfato isomerasa. En este caso, la velocidad de asociación depende del contenido de agua. En concentraciones de agua baja, el intermediario monomérico y el dímero son estables bajo las mismas condiciones; esto es, no existe interconversión entre ambos estados. Por lo tanto, la disminución en la cantidad de agua en contacto con la proteína, aumenta la energía de activación de la dimerización. En estas condiciones, las barreras cinéticas y no las termodinámicas determinan el estado final de plegamiento. De esta manera, el solvente cataliza la formación de la estructura nativa de las proteínas.

AGRADECIMIENTOS

El autor desea agradecer al Profesor Armando Gómez-Puyou la asesoría y revisión del presente artículo y a M Costas, H Ceceña, J J García y R Zubillaga por las discusiones en el Seminario de Plegamiento de Proteínas.

REFERENCIAS

- Creighton TE (1993) Proteins, Segunda Ed W H Freeman & Co New York, pp 287-323.
- 2. Anfinsen C B (1973) Principles that govern the folding of protein chains. Science 181:223-230.
- Privalov P L (1992) Physical Basis of the stability of the folded conformations of proteins. En Protein Folding. Editor: T E Creighton, W H Freeman & Co New York, pp 83-126.
- Hu C-Q, Sturtevant J M, Thomson J A, Erickson R E y Pace C N (1992) Thermodynamics of ribonuclease T₁ denaturation. Biochemistry 31:4876-4882.
- 5. Shirley B A, Stanssens P, Hahn U y Pace C N (1992) Contribution of hydrogen bonding to the conformational stability of ribonuclease T₁. Biochemistry 31:725-732.
- Matthews B W (1993) Structural and genetic analysis of protein stability. Annu Rev Biochem 62:139-160.
- 7. Fersht A R y Serrano L (1993) Principles of protein stability derived from protein engineering experiments. Curr Opin Struct Biol 3:75-83.

- 8. Gross M y Jaenicke R (1994) Proteins under pressure. Eur J Biochem 221:617-630.
- 9. Dobson C M (1992) Unfolded proteins, compact states and molten globules. Curr Opin Struct Biol 2:6-12.
- Baldwin R L (1993) Pulsed H/D-exchange studies of folding intermediates. Curr Opin Struct Biol 3:84-91.
- 11. Matthews CR (1993) Pathways of protein folding. Annu Rev Biochem 62:653-683.
- 12. Jaenicke R (1987) Folding and association of proteins. Prog Biophys Mol Biol 49:117-237.
- 13. Silva J L y Weber G (1993) Pressure stability of proteins. Annu Rev Phys Chem 44:89-113.
- 14. Baker D, Sohl J L y Agard D A (1992) A protein-folding reaction under kinetic control. Nature 356:263-265.
- 15. Fernández-Velasco D A, Sepúlveda-Becerra M, Galina A, Darszon A, Tuena de Gómez-Puyou M y Gómez-Puyou A (1995) Water requirements in monomer folding and dimerization of triosephosphate isomerase in reverse micelles. Intrinsic fluorescence of conformers related to reactivation. Biochemistry 34:361-369.

INTERACCIONES ENTRE Entamoeba histolytica Y EL COMPLEMENTO

Laila Gutiérrez Kobeh y Ruy Pérez Montfort. Departamento de Microbiología, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México. Apartado Postal 70-242, 04510 México, D F.

RESUMEN

La resistencia de Entamoeba histolytica al complemento es un factor importante en la capacidad invasora de este parásito. En el presente trabajo se resumen los principales hallazgos sobre la interacción de las amibas con el sistema del complemento. Los trofozoítos de E histolytica activan al complemento por las vías clásica y alterna. Existen diferencias entre las amibas patógenas y las no patógenas en la resistencia a la lisis mediada por el complemento. El mecanismo preciso de la resistencia a la lisis no se conoce, pero ya se han propuesto algunas hipótesis acerca de como las amibas resisten la muerte por el complejo de ataque a membranas.

PALABRAS CLAVE: Entamoeba histolytica, complemento, lisis, resistencia, complejo de ataque a membranas.

ABSTRACT

The resistance of *Entamoeba histolytica* to complement is an important factor in the invasive capacity of this parasite. This work summarizes the main findings about the interaction of amebas with the complement system. Trophozoites of *E histolytica* activate complement by the classical and alternative pathways. There are differences between pathogenic and non-pathogenic amebas in their resistance to complement mediated lysis. The precise mechanism of the resistance to complement is not known, but there are some proposed ways of how amebas resist killing by membrane attack complexes

KEY WORDS: Entamoeba histolytica, complement, resistance, lysis, membrane attack complex.

INTRODUCCION

La amibiasis es el padecimiento provocado por el parásito *Entamoeba histolytica*. Este parásito puede permanecer como comensal en el tracto digestivo o invadir algunos órganos como el hígado. Se sabe

que en este cambio de comportamiento están involucrados diversos factores tales como inducción de muerte por contacto en las células del hospedero, liberación del ameboporo y proteasas de cisteína y resistencia a los mecanismos de defensa del huésped. Uno de estos mecanismos es el sistema del complemento. Este sistema está formado por un conjunto de reacciones altamente integradas y controladas que combinan mecanismos primitivos de reconocimiento y funciones efectoras que juegan un papel muy importante en otros sistemas de defensa de los organismos.

I. EL SISTEMA DEL COMPLEMENTO

El complemento es el principal sistema efector citolítico presente en el suero. Está formado por 30 o más proteínas, presentes en el plasma o en las membranas celulares, que actúan solas o en cooperación con anticuerpos o con células que expresan receptores del complemento. Desempeña varias funciones en los organismos como incrementar la permeabilidad vascular, contracción de músculo liso, liberación de mediadores de células cebadas, opsonización y fagocitosis, activación y quimiotaxis de neutrófilos y lisis de células, entre otras (Tabla I).

El sistema del complemento puede activarse por dos vías, la clásica o la alterna, las cuales llevan al ensamblaje del complejo de ataque a las membranas. La función primaria de las vías de activación es la formación de las convertasas de C3 que rompen al componente C3 en C3a y C3b. Esta ruptura provoca la exposición de un enlace tioéster que puede reaccionar con grupos amino o hidroxilo (Fig 1).

II. LA VIA CLASICA

Esta vía se inicia por la interacción del complejo C1, constituido por C1q, C1s, C1r, con complejos inmunes formados por anticuerpos de las clases IgG o IgM unidos a sus antígenos respectivos. Esta interacción permite la activación de las proenzimas

TABLA I

PROTEINAS DEL COMPLEMENTO Y ALGUNAS DE SUS CARACTERISTICAS ESTRUCTURALES

Proteínas	Masa molecular (kDa)	Características estructurales	
Vías de activación			
C1q	462	Similar a la colágena	
C1r/C1s	83/83	Proteasa de serina, SCRª	
Factor D	24	Proteasa de serina	
C2/Factor B	102/92	Proteasa de serina, SCR	
C4/C3	205/185	Contiene tioéster	
Vía terminal			
	190	Similar a C3 y C4, sin tioéster	
C6/C7	120/110	Formadoras de poros, SCR	
C8/C9	150/71	Formadoras de poros	
Proteínas reguladoras			
Plasmáticas			
Properdina (P)	220		
Inhibidor de C1	110	Inhibidor de proteasa de serina	
Factor I	88	Proteasa de serina	
Proteína que une C4	500/150	SCR	
(C4bp)/Factor H Proteína S o vitronectina	83		
Unidas a membranas			
Factor acelerador del decaimiento (DAF)	70	SCR, ancla de PI ^b	
Proteína cofactor de membrana (MCP)	45/70	SCR	
Factor de restricción homóloga	65	Ancla de PI	
CD59	18	Ancla de PI	
Receptores del complemento			
CR1 (4 alotipos)	250, 220, 190, 160	SCR	
CR2	145	SCR	
neutrófilos y lixis de células, entre ou ·SO	165 (α)	Integrina de leucocito	
p150, 95	95 (β)	olegizado ed viltorgaturaca	
prou, 35	150 (α) 95 (β)	Integrina de leucocito	

*SCR: Repeticiones consensales cortas; bPI: fosfatidilinositol

C1r y C1s. El C1s activado rompe al C4 en C4a y C4b. El C4b interacciona con C2, lo que provoca su ruptura y la formación de la convertasa de C3 de la vía clásica que rompe al C3 en C3a y C3b. El C3b se une covalentemente a la membrana activadora y funciona como aceptor de C5, lo que modifica la especificidad de la convertasa de C3. Se forma así la convertasa de C5, que hidroliza a C5 en C5a y C5b, con lo que se inicia el ensamblaje del complejo de ataque a las membranas.

III. LA VIA ALTERNA

La activación de este vía no requiere de la participación de anticuerpos y juega un papel muy importante en la defensa contra los agentes infecciosos. Las partículas activadoras son de naturaleza diversa como bacterias, virus, hongos, parásitos, células infectadas por virus y algunas células tumorales. La iniciación de esta vía se da cuando el C3, modificado en el tioéster por agua (C3H₂O), sufre un cambio y expresa una conformación y función del tipo C3b

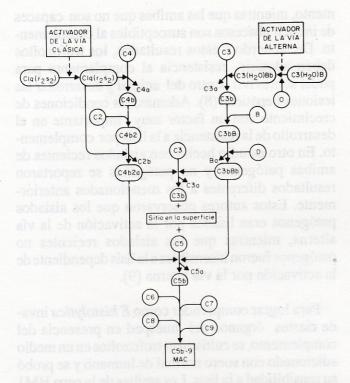


Figura 1. Diagrama que representa las vías de activación del complemento que culminan con el ensamblaje del complejo de ataque a membranas. La vía clásica (izquierda) se dispara por complejos inmunes y la vía alterna (derecha) se activa por una gran variedad de compuestos y superficies celulares.

llamado C3i. El C3i se une al factor B y este complejo es roto por el factor D. Se forma la convertasa de C3 de la vía alterna que rompe al C3 en C3a y C3b. Cada molécula de C3b puede formar una convertasa de C3, por lo que se producen muchas enzimas en la superficie celular y en la fase fluida. La formación indiscriminada de convertasas de C3 se evita con la acción de los factores H e I. El factor H compite con B por la unión a C3b y facilita la disociación de C3bBb. El factor I hidroliza a C3b. La properdina estabiliza las convertasas de C3 y C5 de la vía alterna, lo que impide el decaimiento de estas enzimas.

IV. LA VIA MEMBRANOLITICA

Esta vía se inicia con el rompimiento de C5 en C5a y C5b. El C5b forma un complejo con C6 que se une a la membrana celular y a este complejo se unen C7 y C8. El complejo C5b8 permite la asociación y polimerización de C9 y la formación de las lesiones. Las lesiones producidas por el complejo de ataque a las membranas permiten el intercambio de pequeñas moléculas e iones y la entrada de agua, lo que provoca que las células se hinchen y se lisen.

El complemento puede participar en el daño a los trofozoítos de *Entamoeba histolytica* por mecanismos como lisis provocada por la acción del complemento en forma dependiente o independiente de anticuerpos y muerte de las amibas mediada por células fagocíticas (1).

V.ACTIVACION DEL COMPLEMENTO POR

Entamoeba histolytica

En los primeros estudios sobre la interacción de E histolytica y el complemento se demostró que los trofozoítos de las cepas HK9 y NIH200 eran lisados por suero de humano normal (SHN) a una concentración mayor de 10% v/v. La lisis de amibas con suero adsorbido con trofozoítos mostró que el efecto lítico se debía al complemento y no a los anticuerpos. La participación del complemento en el efecto citopatógeno (ECP) del suero de humano sobre E histolytica se demostró por la inhibición de éste por calentamiento a 56°C por 30 minutos, por la adición de zimosán, factor del veneno de cobra (CVF), EDTA o EGTA. En el último tratamiento el ECP se restauró al añadir, además de EGTA, iones de magnesio (0.3 mM). Esto demostró la participación de la vía alterna del complemento, ya que la activación de la vía alterna requiere de la presencia de iones de magnesio, a diferencia de la activación de la vía clásica que requiere iones de calcio. Además, los trofozoítos de E histolytica indujeron la conversión del componente Ben Bb y Ba (2). La incubación del suero con E histolytica causó una disminución de los niveles de complemento determinados en el sobrenadante de la reacción. Al analizar los niveles de los componentes C1, C4, C2 y C3 en el suero adsorbido con trofozoítos, se encontró que el nivel de C3 se redujo significativamente, mientras que los niveles de C1, C2 y C4 mostraron una leve disminución. Esto fue una demostración más de que las amibas eran lisadas por la activación de la vía alterna (2). Otros autores también demostraron esto utilizando suero de cobayo deficiente en C4, con el cual no hubo lisis de *E histolytica* (3).

En otros experimentos se demostró que la amiba activa también al complemento por la vía clásica. El uso de sueros deficientes en componentes requeridos para la activación de las vías del complemento permitió conocer que la superficie de la amiba promueve la activación del complemento por la vía clásica, sin la participación de anticuerpos específicos

(4). Estos autores probaron la activación del complemento al medir el depósito de C3 y la lisis celular. Al incubar trofozoítos con suero de humano normal adicionado con I¹²⁵C3, éstos unieron moléculas de C3b a sus membranas en ausencia de anticuerpos específicos.

VI. COMPONENTES AMIBIANOS QUE PARTICIPAN EN LA ACTIVACION DEL COMPLEMENTO

La superficie celular de la amiba, rica en carbohidratos, es un contribuyente muy importante en el consumo de componentes de las vías clásica y alterna del complemento en la fase fluida (4 y 5). Actualmente se sabe que una de las proteasas amibianas, la proteasa neutra de cisteína de 56 kDa, activa al sistema del complemento por el rompimiento de C3 en la fase fluida (6). La degradación del C3 se da en la cadena a entre los residuos Ser y Asnen las posiciones 78 y 79, de manera muy similar a la ruptura de C3 por las convertasas.

VII. LA RESISTENCIA AL COMPLEMENTO COMO UN FACTOR DE PATOGENIA DE Entamoeba histolytica

Los trofozoítos que infectan tejidos parecen ser refractarios al daño por complemento. Para demostrar las diferencias en sensibilidad al complemento se han empleado muestras clínicas cultivadas en condiciones que imitan las del intestino del humano por la adición de bacterias y almidón. Según Reed y colaboradores (7), la resistencia o susceptibilidad al complemento está correlacionada con los zimodemos de los trofozoítos aislados. Las amibas mantenidas en medio de Robinson con zimodemo I y III no patógenos fueron susceptibles a la lisis por la activación de la vía alterna del complemento. Por el contrario, 9 de 11 cepas patógenas (zimodemos II, IX y XIV) cultivadas bajo condiciones idénticas, fueron resistentes a la muerte por complemento (7).

Otros autores probaron la susceptibilidad al suero de humano y de hámster en amibas patógenas, con diferente grado de virulencia, crecidas en medio axénico y medida por la formación de abscesos hepáticos en hámster. Encontraron que las amibas capaces de inducir los abscesos hepáticos en el hámster son resistentes al complemento y tienen la capacidad de consumir componentes del comple-

mento, mientras que las amibas que no son capaces de inducir abscesos son susceptibles al complemento. De acuerdo a estos resultados, los trofozoítos deben adquirir resistencia al complemento para poder sobrevivir dentro del animal y desarrollar las lesiones hepáticas (8). Además, las condiciones de crecimiento son un factor muy importante en el desarrollo de la resistencia a la lisis por complemento. En otro estudio hecho con aislados recientes de amibas patógenas y no patógenas se reportaron resultados diferentes a los mencionados anteriormente. Estos autores observaron que los aislados patógenos eran lisados por la activación de la vía alterna, mientras que los aislados recientes no patógenos fueron insensibles a la lisis dependiente de la activación por la vía alterna (9).

Para lograr comprender como E histolytica invade ciertos órganos del huésped en presencia del complemento, se cultivaron trofozoítos en un medio adicionado con suero normal de humano y se probó su sensibilidad a la lisis. Las amibas de la cepa HM1 y la clona 5C1, derivada de esta cepa, fueron tratadas repetidamente con suero normal de humano y mostraron una susceptibilidad reducida a la lisis por complemento. La resistencia fue revertida cuando el tratamiento con suero normal de humano fue suspendido (10). Estos autores sugieren que la resistencia es una capacidad adquirida y no el resultado de un proceso de selección de una subclona genéticamente resistente. Esta resistencia depende de la presencia continua de suero, lo que sugiere que es inducida por el complemento.

VIII. ACTIVACION DEL COMPLEMENTO POR AMIBAS SENSIBLES Y RESISTENTES AL SUERO DE HUMANO

Las amibas sensibles y las resistentes al suero son capaces de activar al complemento. Ambas cepas consumen componentes del complemento en forma rápida, demostrado por la cantidad de suero requerida para lisar el 50% de eritrocitos (CH₅₀) y actividades hemolíticas de C3, C7 y C59. Cuando ambas cepas se incuban con I¹²⁵C3 en presencia de SHN al 10%, la cadena alfa de C3 en la fase fluida se rompe en C3b o C3bi. Por otro lado, en la superficie celular sólo se localizan moléculas de C3 con la cadena alfa intacta (11). Se sugiere que las cepas sensibles al complemento se lisan por una reacción que incluye el ensamblaje del complejo de ataque a las membra-

nas iniciado por el rompimiento de C3 en la fase fluida (11).

Otros autores probaron la unión de C3 a diferentes aislados de E histolytica. Al determinar cuantitativamente el C3 unido a las amibas de un aislado patógeno, un aislado patógeno pasado por hígado de hámster y un aislado no patógeno, observaron que las amibas patógenas sensibles al complemento unieron más productos de C3 que las amibas resistentes al complemento. Los productos de C3 unidos covalentemente a los parásitos fueron C3bi y C3d (9). Estos autores adjudican las diferencias en sus resultados, con respecto a lo observado anteriormente, a que en el primer estudio las amibas fueron incubadas a una concentración de suero del 10%. Esta concentración sublítica de suero pudo resultar en una activación del complemento insuficiente para detectar C3b en la superficie del parásito.

El mecanismo por el cual estos organismos evaden la destrucción mediada por los componentes citolíticos no se conoce. Es probable que las cepas patógenas de *E histolytica* utilicen mecanismos similares a los descritos para otros parásitos para evadir la lisis por el complemento.

Como un acercamiento en la búsqueda de un mecanismo de resistencia al complemento en E histolytica similar a los encontrados en otros parásitos, Braga y colaboradores (12) utilizaron amibas cultivadas en presencia de suero de humano (resistencia 50% mayor que en amibas no cultivadas), para inmunizar ratones A/J e identificaron dos clonas que aumentaron la lisis de E histolytica por el suero de humano. Este aumento en la lisis se presentó en amibas expuestas a las proteínas de C5b-9 en ausencia de cualquier otro componente, se dio con los fragmentos Fab del anticuerpo, no hubo lisis en presencia del anticuerpo solo o sin C9 y el anticuerpo aumentó la unión de I125-C9 a las amibas de la cepa HM1 resistente al suero. El componente celular afectado por el anticuerpo monoclonal es intrínseco a la membrana de la amiba y no derivado del suero, ya que el efecto se observó en amibas resistentes a suero humano preparadas sin la presencia de éste. Estos resultados sugirieron que el anticuerpo 3D12 potenciaba la activación de C9 por el C5b-8, posiblemente al neutralizar un inhibidor de la formación del poro. El anticuerpo monoclonal 3D12 inmuno precipitó una proteína que migraba junto con la subunidad de 170 kDa de la lectina específica para galactosa o "adhesina". Esta adhesina es uno de los principales componentes de la superficie celular de la amiba. La adhesina purificada por afinidad redujo en un 90% la lisis mediada por los componentes del complejo C5b-9 y este efecto fue parcialmente revertido por la adición del anticuerpo 3D12. Se demostró que la adhesina específica para galactosa une C8 y C9 e inhibe la lisis de amibas sensibles en el punto del ensamblaje de C8 y C9. Esto la hace similar a la proteína reguladora del complemento, el CD59, cuya función parece residir en su capacidad de unirse a C8 y C9 en el complejo C5b-9.

Por medio de estudios de citofluorometría se encontró que un anticuerpo monoclonal contra CD59 reconoce una molécula fuertemente expresada en la cepa de *E histolytica* HM1: IMSS. Se comparó la reactividad cruzada entre dos cepas de *E histolytica* HM1: IMSS y la mutante BG3, que es menos virulenta en términos de producción de abscesos hepáticos en el hámster y se observó que la marcación fue sustancialmente más intensa en la cepa altamente virulenta (intensidad de fluorescencia media MFI =249.7) que en la mutante BG3 (MFI=102.3)(13).

En otros experimentos se observó que la resistencia al complemento inducida en E histolytica patógena, por el paso por hígado de hámster, fue completamente abolida por fijación en glutaraldehído o tratamiento con tripsina y se revirtió parcialmente con citocalasina B. El efecto de la tripsina dependió del tiempo entre el tratamiento con la enzima y la exposición al complemento y resultó en un incremento del doble en la cantidad de productos de C3 unidos a las amibas, por lo que estos autores piensan que un factor, sensible a tripsina, interfiere con la amplificación de la vía alterna. A diferencia de lo encontrado con las amibas patógenas, la resistencia al complemento de las formas no patógenas no se vio afectada por ninguno de los componentes usados. Al fijar en glutaraldehído a las amibas resistentes y a las sensibles al complemento, no sólo fueron altamente susceptibles a la lisis sino que también unieron cantidades similares de productos de C3. Bajo estas condiciones la unión de C3 fue siete veces mayor que en las amibas no tratadas. Esto sugiere que los mecanismos que intervienen en la resistencia al complemento difieren entre amibas patógenas y no patógenas (14).

IX. LA ACTIVACION DEL COMPLEMENTO EN EL DESARROLLO DE LA AMIBIASIS

El papel de la activación del complemento en el rechazo de la infección amibiana in vivo fue estudiado en hámster tratados con CVF e inoculados posteriormente con E histolytica. El tratamiento con el CVF resultó en una disminución del complemento por al menos dos días, lo cual fue mostrado por la actividad hemolítica del suero y provocó en estos animales pérdida de peso, mayor frecuencia y gravedad en las lesiones hepáticas y disminución en el tiempo de sobrevivencia, en comparación con los animales control (15). Los hámster tratados con el CVF y los controles mostraron títulos similares de hemaglutinación directa. Esto indica que la frecuencia y exacerbación de los abscesos hepáticos en el hámster no parecen deberse a una alteración o supresión de la respuesta de anticuerpos a las amibas.

El desarrollo de la infección amibiana en el humano es un fenómeno multifactorial en donde el complemento juega un papel muy importante en la relación huéspedparásito. La presencia de anticuerpos dirigidos contra antígenos de superficie indica que el complemento puede ser activado por la vía clásica. Los pacientes con abscesos hepáticos amibianos presentan niveles variables de complemento dependiendo de la fase del absceso. En general, los niveles de C3 son bajos y los de C1q son normales. Esto sugiere que la vía alterna es activada o que el daño hepático puede disminuir la producción de C3. Por otro lado, se ha observado que las concentraciones plasmáticas de C3d están elevadas en pacientes con padecimientos hepáticos crónicos, independientemente de las concentraciones séricas de C3.

CONCLUSIONES

La resistencia de Entamoeba histolytica a una de las defensas del hospedero, como lo es el complemento, representa un factor muy importante en la invasividad de este parásito. Los trofozoítos son capaces de desarrollar resistencia al complemento si se cultivan en presencia continua de suero. Las cepas resistentes y susceptibles al suero activan y consumen los componentes iniciales del complemento en la misma forma y al mismo grado, por lo que la resistencia a este mecanismo de defensa del huésped debe radicar en la forma como las amibas impiden el ensamblaje del complejo de ataque a las membranas.

REFERENCIAS

- Calderón J (1988) The role of complement in host defense against Entamoeba histolytica. En Amebiasis. Human Infection by Entamoeba histolytica, Editor: Ravdin, JI, John Wiley and Sons, New York, pp 453-463.
- 2. Ortiz-Ortiz L, Capin R, Capin N R, Sepúlveda, B y Zamacona G (1978) Activation of the alternative pathway of complement by *Entamoeba histolytica*. Clin Exp Immunol 34: 10-18.
- 3. Huldt G, Davies P, Allison A C y Schorlemmer H U (1979) Interactions between *Entamoeba histolytica* and complement. Nature 277: 214-217.
- 4. Calderón J y Schreiber R D (1985) Activation of the alternative and classical complement pathways by *Entamoeba histolytica*. Infect Immun 50: 560-565.
- 5. Reed SL, Curd JG, Gigli I, Gillin FD y Braude AI (1986) Activation of complement by pathogenic and non pathogenic *Entamoeba histolytica*. J Immunol 136: 2265-2270.
- 6. Reed S L, Keene W E, Mc Kerrow J H y Gigli I (1989) Cleavage of C3 by a neutral cysteine proteinase of *Entamoeba histolytica*. J Immunol 143: 189-195.

- Reed S L, Sargeaunt P G y Braude A I (1983) Resistance to lysis by human serum of pathogenic *Entamoeba* histolytica. Trans R Soc Trop Med Hyg 77: 248-253.
- 8. Mogyoros M, Calef E y Gitler C (1986) Pathogenicity of Entamoeba histolytica correlates with the capacity to develop complement resistance. Isr J Med Sci 22: 915-917.
- Hamelmann C, Foerster B, Burchard G D, Shetty N y Horstmann R D (1993) Induction of complement resistance in cloned pathogenic Entamoeba histolytica. Par Immunol 15: 223-228.
- 10. Calderón J y Tovar R (1986) Loss of susceptibility to complement lysis in *Entamoeba histolytica* HM1 by treatment with human serum. Immunology 58: 467-471.
- 11. Reed S Ly Gigli I (1990) Lysis of complement-sensitive Entamoeba histolytica by activated terminal complement components. Initiation of complement activation by an extracellular neutral cysteine proteinase. J Clin Invest 86: 1815-1822.
- Braga L L, Ninomiya H, Mc Coy J J, Eacker S, Wiedmer T, Pham C, Wood S, Sims P J y Petri W A Jr (1992)

- Inhibition of the complement membrane attack complex by the galactose-specific adhesin of *Entamoeba histolytica*. J Clin Invest 90: 1131-1137.
- Flores-Romo L, Tsutsumi V, Estrada-García T, Shibayama M, Aubry JP, Bacon KBy Martínez-Palomo A (1994) CD59 (protectin) molecule, resistance to complement, and virulence of *Entamoeba histolytica*. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 88: 116-117.

ción que dan erigen a anevos genes se tiene la

- Hamelmann C, Urban B, Foerster B y Horstmann R D (1993) Complement resistance of pathogenic Entamoeba histolytica mediated by trypsin-sensitive surface component(s). Infect Immun 61: 1636-1640.
- Capin R, Capin N R, Carmona R, Ortiz-Ortiz L (1980)
 Effect of complement depletion on the induction of amebic liver abscesses in the hamster. Arch Invest Méd (Méx) 11: 173-180.

pueden tener que interpretarse de distinta manera.

ENTRE SIMILITUD Y HOMOLOGIA

Alberto Huberman. Departamento de Bioquímica, Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán", Vasco de Quiroga 15, Tlalpan 14000, México, D F.

RESUMEN

Los términos similitud y homología se usan indiscriminada y erróneamente. La similitud indica un parecido entre dos secuencias, ya sea de proteínas o de ácidos nucleicos y puede cuantificarse, mientras que la homología indica un origen común hipotético que debe ser demostrado y que no puede ser cuantificado, puesto que es una valoración de tipo "verdadero o falso".

PALABRAS CLAVE: evolución, secuencia, proteínas, ácidos nucleicos.

ABSTRACT

The words similarity and homology are used indiscriminately and erroneously. Similarity indicates a resemblance between two sequences, either of proteins or of nucleic acids which can be quantitated, whereas homology indicates a hypothetical common origin that has to be demonstrated and that cannot be quantitated because it is a "true or false" concept.

KEY WORDS: evolution, sequence, proteins, nucleic acids.

INTRODUCCION

Los equívocos introducidos por el uso indiscriminado de los términos similitud y homología provocan falta de claridad conceptual, cuando precisamente la intención es adjudicar vocablos específicos a objetos o situaciones también específicos.

En diferentes situaciones, similitud y homología pueden tener que interpretarse de distinta manera. Así, para un paleontólogo, homología significa que dos estructuras tienen un origen evolutivo o embriológico común. La condición de homología sólo puede ser "verdadera o falsa", es decir, dos estructuras son homólogas o no lo son, o se derivan o no de una forma primitiva común. Por lo tanto, no es posible hablar de grados de homología y mucho menos de porcentaje de homología.

La palabra similitud lleva el significado de parecido y aquí sí cabe el establecer diferentes niveles de parecidos e inclusive cuantificarlos. Por ejemplo, se puede cuantificar el número de residuos de aminoácidos idénticos en dos proteínas, o el número de nucleótidos idénticos en dos ácidos nucleicos, lo que nos da una medida de su similitud, que puede expresarse en porcentaje.

Lo importante es no confundir los dos conceptos. El hocico del ornitorrinco se parece mucho al pico del pato, pero a pesar de su similitud evidente, no pueden ser considerados órganos homólogos puesto que no tienen un origen evolutivo común.

Por otro lado, los pelos del ornitorrinco y las plumas del pato, así como las patas anteriores del primero y las alas del segundo, han perdido todo parecido (similitud) por evolución divergente, pero como son estructuras derivadas de antepasados comunes, deben ser considerados órganos homólogos.

En biología molecular, encontrar un parecido entre dos secuencias, ya sea de ácidos nucleicos o de proteínas, puede definir un grado de similitud (expresable como porcentaje de residuos idénticos) y puede sugerir un origen evolutivo común que debe ser estudiado y demostrado antes de ser aceptado.

Entre los mecanismos moleculares de la evolución que dan origen a nuevos genes se tiene la duplicación, la mutación, el reordenamiento de los exones, transferencia horizontal, corrimiento del marco de lectura ribosomal, iniciación interna de la traducción, lectura alternativa de los codones de terminación, etc, a partir de un número restringido de genes primitivos [Dorit et al(1) calculan entre 1,000 y 7,000 exones originales]. Esto significa que las secuencias homólogas retienen por un tiempo relativamente largo semejanzas mensurables y sugiere que las secuencias similares poseen un origen evolutivo común (2, 3 y 4).

Por otro lado, algunas similitudes estructurales y funcionales pueden ser reflejo del fenómeno de evolución convergente, como es el caso de las cinasas de diferentes carbohidratos simples (5), que pueden ser divididas en tres familias no homólogas que catalizan reacciones enzimáticas químicamente equivalentes sobre sustratos similares o idénticos. Un ejemplo clásico de evolución convergente es el de las proteasas de serina en las que la tríada Ser-His-Asp se encuentra en una posición tridimensional casi idéntica en las estructuras diferentes de la tripsina y de la subtilisina (y sus respectivos congéneres) (6). Otros ejemplos son las dos clases diferentes de sintetasas del ARN de transferencia (7) y las dos clases estructurales de superóxido dismutasas (8).

La demostración formal de la existencia de homología entre dos secuencias exige poder estudiar, a nivel molecular, el árbol filogenético de la macromolécula. La noción de homología entre dos secuencias, en la mayoría de los casos, no es más que una hipótesis difícil de demostrar. A falta de esta demostración, más vale utilizar la prudencia terminológica, ya que la confusión entre parecido (similitud) y origen común (homología) puede conducir a razonamientos potencialmente erróneos y debe ser evitada.

Un ejemplo correcto de la literatura reciente es el que sigue: "...una alineación entre la secuencia parcial de la enterolobina (una proteína citolítica, inflamatoria e insecticida, de 55 kDa, extraída de las semillas del árbol brasileño Enterolobium contortisiliquum) y las secuencias de las citolisinas bacterianas o aerolisinas de Aeromonas hydrophila y A sobria, mostró varias regiones similares con muchos residuos idénticos. La proteína de las semillas enterolobina y las aerolisinas bacterianas pueden ser proteínas homólogas a pesar de la relación filogenética distante..." (9).

REFERENCIAS

- 1. Dorit R L, Schoenbach L y Gilbert W (1990) How big is the universe of exons? Science 250: 1377-1382.
- 2. Chothia C y Lesk A M (1987) The evolution of protein structures. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology 52: 399-405.
- 3. Ohta T (1989) Role of gene duplication in evolution. Genome *31*: 304-310.
- 4. Doolittle R F (1992) Reconstructing history with amino acid sequences. Protein Science 1: 191-200.
- 5. Bork P, Sander Ch y Valencia A (1993) Convergent evolution of similar enzymatic function on different protein folds: the hexokinase, ribokinase, and galactokinase

- families of sugar kinases. Protein Science 2: 31-40.
- 6. Wright C S, Alden R A y Kraut J (1969) Structure of subtilisin BPN' at 2.5 Å resolution. Nature 221: 235-242.
- Nagel G My Doolittle R F (1991) Evolution and relatedness in two aminoacyl-tRNA synthetase families. Proc Natl Acad Sci USA 88: 8121-8125.
- 8. Smith M W y Doolittle R F (1992) A comparison of evolutionary rates of the two major kinds of superoxide dismutase. J Mol Evol 34: 175-184.
- 9. Sousa M V, Richardson M, Fontes W y Morhy L (1994) Homology between the seed cytolysin enterolobin and bacterial aerolysins. J Prot Chem 13: 659-667.

EL DESARROLLO DE LA HIPOTESIS DE MITCHELL: UN CASO EJEMPLAR Y UN ARQUETIPO PARA LA DOCENCIA*

Antonio Peña. Departamento de Microbiología, Instituto de Fisiología Celular, UNAM. Ciudad Universitaria. Apartado Postal 70-242, México, D F.

Frente a los problemas que la docencia representa, tal vez el más difícil no sea empujar a los alumnos a aprender una serie grande de conocimientos, que aún entre los mejores de ellos, tienen una duración efímera, sino en despertarles un interés legítimo y duradero en temas que han sido verdaderos ejemplos, obras maestras del pensamiento, del trabajo y del tesón de, a veces, un individuo.

Una de las formas auxiliares, que no la central, de enseñar algunos temas y de interesar a los estudiantes, puede consistir en mostrarles, en la forma más atractiva posible, historias, como verdaderas aventuras que fueron, de individuos que se enfrentaron, cual personajes novelescos, a grandes adversidades, pero las vencieron. El trabajo de Peter Mitchell fue modelo de inteligencia, de una visión nueva de las cosas, a veces opuesta a lo aceptado en todo el medio y planteado por los grandes grupos de la época, que muy pocos seres humanos son capaces de mostrar, pero que han revolucionado a la ciencia. Yo disfruto muchísimo tres de estos ejemplos, la descripción de la química de los monosacáridos (la glucosa) por Fisher, a finales del siglo XIX, la descripción del ciclo de los ácidos tricarboxílicos o ciclo de Krebs. en el decenio de los treintas, y la hipótesis, luego teoría, quimiosmótica, de Peter Mitchell, en el decenio de los sesentas.

He aquí una breve, incompleta e inexacta historia del desarrollo de esta sencilla, pero genial teoría, obra de Peter Mitchell, desafortunadamente fallecido en 1992.

I. Los antecedentes.

Tal vez la época en la que convenga situarse para analizar el desarrollo de la hipótesis de Mitchell, sea el año anterior a su planteamiento, 1960, para cuando hacía tiempo que se conocía una serie de hechos, entre los cuales destacan los siguientes:

A. La existencia de una cadena respiratoria, y por el trabajo extraordinario de Britton Chance, una buena parte del orden que seguían los electrones en su paso de los sustratos al oxígeno.

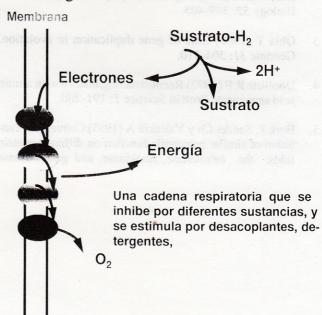


Figura 1. Un esquema de la cadena respiratoria; a través de ella los electrones van de un sustrato al oxígeno y en el proceso se "libera" energía.

^{*} El presente trabajo corresponde a la segunda parte del material presentado por Antonio Peña durante la Conferencia Magistral del III Congreso de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, AC, realizado en Morelia, Michoacán, en agosto de 1994.

La primera parte fue publicada en el BEB, Vol 13 (4) 1994 y dada la aceptación con la que fue recibida por los asistentes al Congreso, nos complacemos en publicar esta última parte.

B. Existía ya el concepto de la fosforilación oxidativa, como un fenómeno en el cual, simultáneamente y "acoplados", tienen lugar el transporte de los electrones al oxígeno (la oxidación) y la fosforilación del ADP, es decir, la reacción que a partir de este nucleótido y fosfato inorgánico, produce ATP.

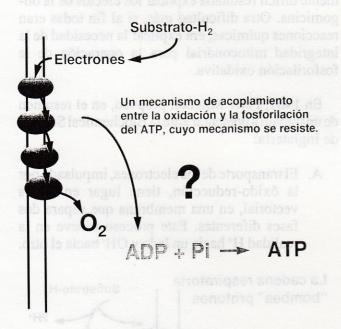


Figura 2. La incógnita del mecanismo de acoplamiento entre la respiración (oxidación) y la fosforilación.

C. Es interesante mencionar el descubrimiento de la capacidad de las mitocondrias de hidrolizar al ATP. La más interesante condición en que ésto se observa es la ruptura de la integridad de la membrana, por soluciones hipotónicas, ultrasonido, detergentes, pero sin duda la más interesante y misteriosa es que se estimula por una serie diversa de sustancias, los llamados desacoplantes. Simultáneamente con estos conocimientos, se generaron otros, esencialmente de las mitocondrias, gracias a la introducción en estas áreas de estudio de algunos antibióticos tóxicos, que se producían en las compañías farmacéuticas, pero que no encontraban, por su toxicidad, aplicación terapéutica alguna. Henry Lardy fue sin duda pieza clave en esta parte del estudio de la foforilación oxidativa. También se utilizaron otras sustancias, conocidas genéricamente como "venenos metabólicos" para el estudio

de las funciones mitocondriales; entre los descubrimientos destacan los siguientes:

- 1. Los desacoplantes, principalmente el 2,4dinitrofenol (DNP) estimulan la respiración mitocondrial.
- 2. Los desacoplantes estimulan la actividad de la ATPasa mitocondrial.
- 3. La antimicina A, el amital (amobarbital) y la rotenona, entre otras sustancias, inhiben la respiración en sitios bien reconocibles de la cadena respiratoria.
- 4. Llama la atención un antibiótico, la oligomicina, que inhibe la respiración mitocondrial, pero no en presencia de dinitrofenol. Es decir, inhibe la respiración "acoplada", pero no la desacoplada. Luego se encuentra que en realidad inhibe directamente a la ATPasa.

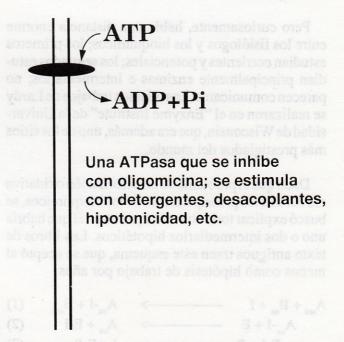


Figura 3. La ATPasa, que se estimula por la acción de muchas sustancias y condiciones. Se inhibe con la oligomicina, que también inhibe, en las mitocondrias "acopladas" la respiración.

D. Paralelamente, para 1960, no sólo existía la ecuación de Nernst, que define en términos claros la relación entre las diferencias de potencial eléctrico y las concentraciones de iones a ambos lados de una membrana; también los electrofisiólogos demuestran que ésto es perfectamente real, demostrable y cuantificable en las membranas en distintos

tipos celulares. Además, la acumulación de iones en un espacio cerrado tiene un componente energético semejante al del aire comprimido o cualquier otro material concentrado en un espacio cerrado.

E. Desde 1950, Conway y Brady (Biochem J 47: 369, 1950) propusieron que en la levadura hay un sistema de "bombeo" de protones al exterior, impulsado por el potencial redox de la célula. Aunque éste fue un planteamiento equivocado, Mitchell mismo lo reconoció como un antecedente importante para la inspiración de su hipótesis. Inclusive, durante años, este investigador irlandés (Conway) mantuvo convencido al mundo de que la producción de ácido en el estómago era igual a la de la levadura, que acidifica el medio en que crece.

Pero curiosamente, había una distancia enorme entre los fisiólogos y los bioquímicos; los primeros estudian corrientes y potenciales; los segundos estudian principalmente enzimas e intermediarios; no parecen comunicarse. Los mismos trabajos de Lardy se realizaron en el "Enzyme Institute" de la Universidad de Wisconsin, que era además, uno de los sitios más prestigiados del mundo.

Dado que el problema de la fosforilación oxidativa era del interés principalmente de los bioquímicos, se buscó explicar todo con un esquema en el que habría uno o dos intermediarios hipotéticos. Los libros de texto antiguos traen este esquema, que se aceptó al menos como hipótesis de trabajo por años:

Los compuestos en los que participaban I y E, eran supuestamente de "alta energía" estándar de hidrólisis, semejantes a los intermediarios de las fosforilaciones a nivel del sustrato en la glucólisis, que se forman en las reacciones de la gliceraldehido-3 fosfato deshidrogenasa o la piruvato cinasa. El problema central era que, en primer lugar, a pesar de que muchos laboratorios del mundo se lanzaron a aislar los supuestos intermediarios I y E, nadie los

encontraba. Desde luego que también era difícil explicar los mecanismos de acción de compuestos como el DNP y otros desacoplantes; se intentaba buscar sitios específicos de acción para esta y otras moléculas con acciones semejantes, pero estructuras diferentes, como el pentaclorofenol, la tetraclorosalicilanilida y muchos otros desacoplantes. Igualmente difícil resultaba explicar los efectos de la oligomicina. Otra dificultad más, si al fin todas eran reacciones químicas, era explicar la necesidad de la integridad mitocondrial para la operación de la fosforilación oxidativa.

En 1961, Peter Mitchell propuso, en el resumen de un trabajo a presentar ante la Biochemical Society de Inglaterra:

A. El transporte de los electrones, impulsado por la óxido-reducción, tiene lugar en forma vectorial, en una membrana que separa dos fases diferentes. Este proceso mueve en la realidad H⁺ hacia un lado y OH⁻ hacia el otro.

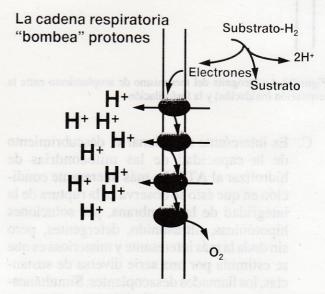
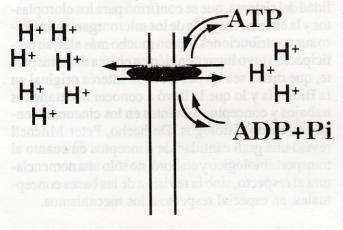


Figura 4. La cadena respiratoria es una "bomba" de protones del interior al exterior de la mitocondria.

- B. Lamembrana es relativamente impermeable a los iones, pero puede permitir el intercambio de H⁺ y OH⁻ por algunos otros de carga semejante.
- C. La membrana contiene una ATPasa "anisotrópica", que cataliza la reacción:

$$ADP + P \longrightarrow ATP + H^+ + OH^-$$

Este era sin duda el concepto más revolucionario: ver a la ATPasa como una "bomba" de protones, pero además reversible y que en la realidad no funcionaba como ATPasa (hidrolizando) sino como sintetasa (sintetizando al ATP).



La ATPasa es una "bomba" de protones (hidrogeniones). Es reversible; si entran H+, sintetiza ATP.

Figura 5. La ATPasa es también una bomba de protones, pero es reversible. El regreso de los electrones expulsados por la cadena respiratoria puede hacerla funcionar al revés, sintetizando ATP.

E. Había otras consideraciones mecanísticas, principalmente sobre la ATPasa.

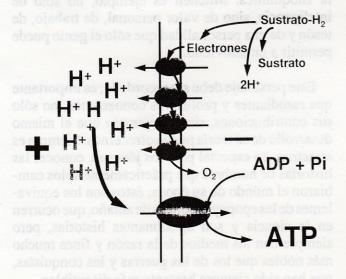


Figura 6. Esquema propuesto para la fosforilación oxidativa. El "intermediario" es el potencial electroquímico, representado por un medio más positivo, y también más ácido en el exterior de la mitocondria, que Mitchell llamó el potencial electroquímico o la "fuerza protonmotriz".

Esencialmente, la entonces hipótesis de Mitchell proponía que el intermediario "de alta energía", generado en la fosforilación oxidativa, no era un compuesto químico, sino una diferencia de concentraciones de H⁺ a ambos lados de la membrana. Ya en una corta publicación en la revista Nature, Peter Mitchell fue más agudo; señalaba que "la naturaleza evasiva, es decir, la imposibilidad de aislar el o los intermediarios de la hipótesis química podria explicarse por el simple hecho de que no existen". Al mismo tiempo, propuso que este sistema de transformación de la energía podría operar en bacterias y hasta en la fosforilación fotosintética, que también se conocía ya.

Otro problema, aparentemente trivial, pero sin duda el más grave en términos de la aceptación por parte de la comunidad científica, era que un casi desconocido microbiólogo que se dedicaba a estudiar el transporte biológico, osara poner en entredicho una hipótesis generada con tanto esfuerzo e "inteligencia" por los grandes de la época. Todavía ahora, en un artículo sobre el tema, Slater (The Biochemist 16: 4-11, 1994) insiste, un tanto a manera de justificación de su rechazo y el de otros investigadores de aquella época, en que era difícil que en un abrir y cerrar de ojos, un microbiólogo desconocido llegara y mostrara al mundo, pero más que nada, a los grandes de la época, la explicación de tantos conceptos que ahí estaban, pero que nadie logró reunir dentro de un esquema tan coherente y claro como la hipótesis quimiosmótica.

Los errores del planteamiento original tenían que ver más con los mecanismos que con los conceptos, pero muchas de las críticas se referían a éstos. He aquí, por ejemplo, los comentarios de Lehninger, Carafoli y Rossi, ya en 1967: "es erróneo pensar en la hipótesis en términos de la termodinámica en equilibrio, y por este hecho parece haber un considerable malentendido en la hipótesis..." (Advanc Enzymol 29: 259, 1967). Fue notorio, de hecho, que el libro de Bioquímica de Lehninger, mientras éste vivió, y ya en los 80s, nunca llegó a incluir la hipótesis (ya teoría) de Mitchell como conocimiento aceptado.

Hubo una situación desafortunada en la vida de Mitchell; su estado de salud se vio amenazado por una úlcera gástrica, y hubo de buscar reposo. Al mismo tiempo, su lugar de trabajo no le satisfacía, y fue pensando en organizar su propio laboratorio en una finca abandonada, que adquirió por poco dinero, pero que requirió de una fuerte inversión y tiempo para reconstruirla. Más aún, Peter Mitchell se encargó personalmente, sin ningún arquitecto, de dirigir esta gran obra. En términos científicos, sin embargo, representó un retraso de casi cuatro años, hasta que en 1965, esencialmente él y Jennifer Moyle reiniciaron sus trabajos sobre el tema en un laboratorio montado en la Glynn House, en Bodmin, Cornwall.

Desde luego que la clave esencial para defender su hipótesis, era que, en efecto, la cadena respiratoria y la ATPasa se comportaran como "bombas" de protones. Su primer trabajo se enfocó en esta dirección, y en 1965, él y Jeniffer Moyle produjeron otra publicación (Nature 208: 1205-6, 1965), en la cual demostraban que en efecto, éste era el caso.

Otra de las contribuciones originales y geniales de Mitchell, consistió en proponer que los desacoplantes actúan simplemente regresando a favor de sus diferencias de concentración, a los H⁺ que los distintos sistemas, redox o ATPasas podrían generar. Esto requirió al mismo tiempo un conocimiento claro de la química de estos compuestos y de su capacidad para deslocalizar y así "esconder" la carga negativa que adquieren al perder un protón; esta propiedad les permite transportar los protones y anular el trabajo realizado por las bombas de estos iones en los sistemas biológicos. El sencillo mecanismo propuesto permitía también explicar la estimulación de la respiración y de la ATPasa, así como el desacoplamiento entre respiración y fosforilación.

Aunque al principio, muchos investigadores tomaron de inmediato partido en su contra, unos pocos empezaron a considerar en serio su propuesta. Sin duda uno de los primeros en ponerse de su lado fue Vladimir Skulachev; el grupo de este investigador ruso y otro más, el de Liberman, demostraron que, como lo propuso Mitchell, la capacidad de algunas sustancias para desacoplar la fosforilación dependía de la que tienen para distribuirse entre la membrana y el medio de incubación (Lieberman, Topaly, Tsofina, Jasaitis y Skulachev, Nature 222: 1076-8, 1969) y para transportar protones.

La hipótesis, ahora teoría de Mitchell no sólo se refirió a los mecanismos de síntesis del ATP en las mitocondrias; desde el principio planteó la universalidad del sistema, que se confirmó para los cloroplastos y la enorme mayoría de los microorganismos. Pero sus contribuciones fueron mucho más allá; su participación tuvo lugar también en el área del transporte, que dicho sea de paso, era su interés original en la Biología y lo que le llevó a conocer al detalle los trabajos y conceptos reinantes en los cincuentas entre los electrofisiólogos. De hecho, Peter Mitchell revisó una gran cantidad de conceptos en cuanto al transporte biológico y elaboró, no sólo una nomenclatura al respecto, sino la revisión de las bases conceptuales, en especial respecto a los mecanismos.

Desafortunadamente, la salud de Peter Mitchell nunca fue óptima; sus detractores y su lucha constante por llevar al éxito sus ideas fueron mermándola; murió en 1992. La humanidad perdió a uno de sus mejores hombres. El premio Nobel que recibió ha sido uno de los más justos y reconocidos; fue uno de tantos honores a un hombre que con un gran esfuerzo personal contribuyó al mundo de la ciencia como pocos, pero además enfrentando en muchas ocasiones la oposición de los más poderosos personajes de la Bioquímica. Mitchell es ejemplo, no sólo de inteligencia, sino de valor personal, de trabajo, de tesón y de una personalidad que sólo el genio puede permitir a un individuo.

Este personaje debe ser recordado; es importante que estudiantes y profesores conozcamos, no sólo sus contribuciones, sino el ejemplo que el mismo desarrollo de su teoría puede ofrecernos. Siempre es atractivo, en especial para los jóvenes, conocer las historias de hombres que prácticamente solos cambiaron el mundo de su época; éstos son los equivalentes de las epopeyas bélicas de antaño, que ocurren en la ciencia y son apasionantes historias, pero siempre con los medios de la razón y fines mucho más nobles que los de las guerras y las conquistas, que han sido siempre bastante más discutibles.

COMPARACION INMUNOLOGICA Y MOLECULAR ENTRE LOS VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANA TIPO 1 Y TIPO 2

Nina Valadez González y Carmen Soler Claudín. Unidad de Investigación en Retrovirus Humanos, Instituto de Investigaciones Biomédicas. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, SSA. Apartado Postal 70-228, 04510 México, D F.

RESUMEN

Desde la identificación del virus de inmunodeficiencia humana (HIV) como el agente etiológico del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), se han identificado 2 tipos; el HIV-1 aislado en 1983 que se encuentra distribuido en todo el mundo y el HIV-2 el cual se aisló por primera vez en 1986 y que se encuentra básicamente restringido al oeste de Africa. HIV-1 y HIV-2 presentan propiedades biológicas y organización genómica similares. Existen reportes que sugieren que HIV-2 podría ser menos patógeno que HIV-1. Por ello es importante comprender mejor las relaciones existentes entre estos dos retrovirus.

PALABRAS CLAVE: HIV-1, HIV-2, SIDA, Antigenicidad, Similitud de secuencias, Patogenicidad.

ABSTRACT

Since the identification of the human immunodeficiency virus (HIV) as the etiologic agent of the acquired immune deficiency syndrome (AIDS), two distinct viral types have been identified. HIV-1 that was first isolated in 1983 and has a worldwide distribution and HIV-2 isolated in 1986 and found mainly in West Africa. HIV-1 and HIV-2 have similar biological properties and genome organization. There are reports that suggest that HIV-2 could be less pathogenic than HIV-1. Therefore it is important to understand better the relationships between these two retroviruses.

KEY WORDS: HIV-1, HIV-2, AIDS, Antigenicity, Sequence similarity, Pathogenicity.

ANTECEDENTES

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) constituye sin duda la primera pandemia de la segun-

da mitad del siglo XX. Detectado en 1981, sus orígenes hay que buscarlos en el Africa Central, donde probablemente se produjo la primera infección de un ser humano, quizá en la década de 1950. Se cree que desde esa zona se propagó al Caribe y posteriormente a los Estados Unidos de América y a Europa.

A los 3 años de haberse detectado la enfermedad ya se había demostrado en forma inequívoca que el agente causal del SIDA era el tercer retrovirus humano conocido, el HTLV-III (virus linfotrópico de células T humanas), también llamado LAV (virus asociado a linfadenopatía) y actualmente conocido como HIV (virus de inmunodeficiencia humana) (1).

En 1985, el grupo de Max Essex aisló de un mono verde africano un virus emparentado con el HTLV-III, denominado STLV-III o SIV (virus de la inmunodeficiencia de simio), el cual podría ser el antecesor del virus causante del SIDA (1).

En 1985 se aisló, de individuos del Africa Occidental, un nuevo retrovirus humano, el HTLV-IV, el cual puede corresponder al eslabón perdido entre el HTLV-III y el STLV-III ya que está muy emparentado con el STLV-III y aunque no se ha definido muy bien su patogenicidad, infecta al hombre (2).

Actualmente al HTLV-III y virus relacionados se les conoce como HIV-1 (virus de inmunodeficiencia humana tipo 1) y al grupo de HTLV-IV, LAV-2, SBL-6669 y virus relacionados como HIV-2 (virus de inmunodeficiencia humana tipo 2).

EPIDEMIOLOGIA DE LA INFECCION POR HIV-2

El HIV-2 es un virus prevaleciente en el Oeste de Africa. El país con la prevalecencia más alta es Guinea-Bissau. Se han encontrado otros casos en Senegal, en las islas de Cabo Verde, y en algunos países situados más al este como Guinea, Malí, Burkina Faso, la República Central Africana y Costa de Marfil. En los países de Africa Central, Ecuatorial y del Este, en los cuales la infección con HIV-1 ha alcanzado proporciones endémicas, la infección con HIV-2 es muy baja.

La diseminación del HIV-2 fuera del Oeste de Africa parece estar muy limitada. Se han reportado varios casos en Francia, Portugal, Alemania Occidental, España y en la India. La mayoría de estos casos se encontraron en individuos que se infectaron en el Oeste de Africa, pero también se ha encontrado en otros que nunca han viajado a esta parte del mundo y pertenecen a grupos de alto riesgo para infección por HIV. En los Estados Unidos de América sólo se han reportado 32 casos de infección con HIV-2, 2 casos en Canadá y 2 casos en Brasil (3).

MORFOLOGIA

Los HIV pertenecen a la subfamilia de los Lentivirus, cuyo virus prototipo es el virus Visna. Ultraestructuralmente los 2 tipos de HIV son muy parecidos, las partículas virales son de forma esférica, de aproximadamente 100 nm de diámetro. El núcleo o "core" de la partícula tiene forma de cono truncado y puede observarse en microfotografías como una zona densa. La nucleocápside se encuentra rodeada de una membrana lipídica con protuberancias proteicas que en algunos casos pueden observarse por microscopía electrónica.

El núcleo o "core" está formado principalmente por la proteína p24 que se encuentra rodeando a 2 moléculas de RNA de cadena sencilla las cuales están asociadas a la proteína p9 y al complejo enzimático de la transcriptasa reversa (TR). La nucleocápside se completa con la proteína p17. Esta partícula nucleoproteica se rodea de una membrana lipídica, la cual obtiene por gemación a través de la membrana de la célula huésped. En esta membrana se encuentran 2 glicoproteínas de origen viral: la glicoproteína transmembranal, embebida en la membrana y que sirve de anclaje para la glicoproteína externa que forma las protuberancias características de estos virus.

Aunque existe una gran variabilidad entre cepas aún tratándose del mismo virus, se ha observado que el HIV-2 muestra protuberancias más prominentes que el HIV-1 y la estabilidad de estas protuberancias se ha relacionado con la patogenicidad de la cepa. Las cepas virales que liberan más glicoproteína externa de su superficie (por lo tanto en microscopía se presentan con menos protuberancias) parecen ser más patogénicas y menos inmunogénicas que aquellas que mantienen sus glicoproteínas unidas a la membrana (4).

BIOLOGIA

Al igual que el HIV-1, el HIV-2 infecta células que expresen la proteína CD4 en su superficie. CD4 es una proteína presente en la membrana de varios tipos de células del sistema inmune, principalmente en la superficie de las células T cooperadoras que son muy importantes para generar una respuesta inmunológica contra las infecciones. A pesar de las diferencias encontradas entre las glicoproteínas de envoltura de ambos tipos de HIV, los dos virus utilizan la molécula CD4 como receptor (5).

La mayoría de los aislados de HIV son citopáticos in vitro, inducen formación de sincicios y muerte celular. Sin embargo, la intensidad de este efecto citopático es variable dependiendo del tipo celular y del aislado.

Se han reportado aislados con baja citopaticidad, pero es poco claro si ésta se correlaciona con una baja patogenicidad *in vivo* (6). Existen pocos aislados de HIV-2 en estudio y es necesario realizar una investigación más amplia de las características biológicas de este virus, que incluyan aislados de diferentes pacientes con distintos cuadros clínicos.

MANIFESTACIONES CLINICAS

El estado de salud de los individuos de los cuales se aísla un virus es uno de los medios de evaluar el potencial patogénico del mismo. El HIV-2 ha sido aislado de individuos asintomáticos y de pacientes con SIDA y hay reportes de casos de asociación de infección con HIV-2 y SIDA. Sin embargo, estos estudios no proporcionan evidencias sobre la relación entre exposición al HIV-2 y el desarrollo del cuadro clínico del SIDA.

A pesar de haber mucha similitud en el cuadro clínico del SIDA entre los casos de infección con HIV-1 y HIV-2, se ha reportado un período de

latencia clínica más largo en individuos infectados con HIV-2. Los estudios realizados en Francia de donadores sanguíneos infectados con HIV-2 y los receptores de sus productos sanguíneos, han documentado un período de infección con HIV-2 de 14 a 16 años sin signos de inmunodeficiencia.

En un estudio en prostitutas del Oeste de Africa, no encuentran diferencias entre el grupo de seropositivas a HIV-2 y el grupo control de seronegativas, en cuanto a signos asociados a SIDA y linfadenopatía generalizada. En una evaluación similar realizada en Gambia, encuentran que la frecuencia de linfadenopatía generalizada en el grupo de prostitutas seropositivas a HIV-2 es 3 veces mayor que en el grupo control de no infectadas. Los resultados de un estudio de comunidad realizado en Guinea-Bissau mostraron que el grupo de seropositivos a HIV-2 presenta disminución de las cuentas de linfocitos CD4+ y de la relación CD4+:CD8+, tal como se ha reportado que sucede con los individuos infectados con HIV-1, en comparación con el grupo control de seronegativos y que en los seropositivos que además presentaban linfadenopatía estos valores eran más bajos que en los seropositivos sin linfadenopatía.

En 1991 se llevó a cabo una investigación con un grupo de prostitutas de Gambia en la cual compararon el estado inmunológico del grupo de seropositivas a HIV-1 con el grupo de seropositivas a HIV-2, encontrando que ambos grupos presentan alteración de la respuesta inmune. Sin embargo, en el grupo de seropositivas a HIV-2 el porcentaje de linfocitos CD4+ y la relación CD4+:CD8+ son significativamente más altos y el porcentaje de CD8+ es más bajo. En este estudio se muestra que el HIV-2 es menos patogénico que el HIV-1 (6, 7 y 8).

Max Essex y cols (8), reportan en 1994, los resultados de un estudio clínico prospectivo que comprende de 1985 a 1993, realizado con mujeres infectadas con HIV-1 o con HIV-2, en el cual encontraron que las infectadas con HIV-1 tienen el 67% de probabilidad de tener una sobrevida de 5 años sin manifestaciones de SIDA, en comparación con el 100% en las infectadas con HIV-2. La frecuencia de progresión hacia cuentas anormales de linfocitos CD4+ fue significativamente menor en el grupo de infecciones con HIV-2 que en los casos de

HIV-1. Otros resultados de este estudio sugieren que la infectividad por vía sexual es de 5 a 9 veces menor en HIV-2. Los estudios sobre transmisión perinatal reportan que la eficiencia de transmisión vertical es 15 a 20 veces menor en HIV-2.

Todos estos estudios apoyan la hipótesis de que HIV-1 y HIV-2 tienen un comportamiento biológico diferente y uno de los determinantes de estas diferencias podría deberse a una menor duplicación viral que se ve reflejada en una menor carga viral en los individuos infectados con HIV-2, lo que se ha determinado con base en estudios de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para cuantificar el número de partículas virales y por aislamiento viral para determinar su capacidad de duplicación. También se han propuesto otros factores propios del virus o de la respuesta inmune del hospedero, que podrían afectar la virulencia del HIV-2, para lo cual es necesario realizar más estudios sobre las diferencias biológicas básicas de estos dos virus.

GENOMA VIRAL

El genoma de los HIV es RNA de una sola cadena, de tipo positivo, de alto peso molecular. En la figura 1 se presentan los mapas genómicos de los 2 tipos de HIV, los cuales se caracterizan por tener 3 genes: gag, pol y env, que codifican proteínas estructurales del virus. En ambos extremos del genoma se encuentran las regiones terminales LTR que tienen funciones reguladoras. Además, ambos tipos de HIV tienen 6 genes que codifican proteínas reguladoras.

En el HIV-1 los genes estructurales codifican proteínas que forman la partícula viral o que tienen actividades enzimáticas indispensables para su duplicación. El gen gag codifica una proteína p55, que es la precursora de las proteínas de la nucleocápside del virus (p24, p17 y p15); pol tiene la información para las enzimas transcriptasa reversa (TR) (p51, p66), integrasa (p31) y proteasa (p10) y env codifica un precursor glicosilado, gp160 que es procesado en la glicoproteína externa de membrana (gp120) y la glicoproteína transmembranal (gp41).

Los genes que codifican las proteínas reguladoras se pueden agrupar en 2 clases: 1) genes que producen proteínas esenciales para la duplicación del HIV (tat y rev) y 2) genes que realizan funciones accesorias que afectan la duplicación y/o la infectividad

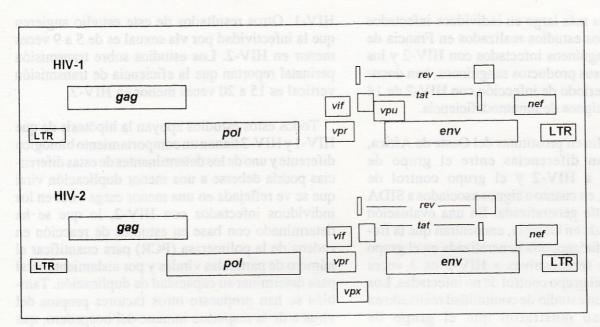


Figura 1. Comparación esquemática de los mapas genómicos de HIV-1 y HIV-2.

(vif, nef, vpr, vpu en HIV-1 y sin vpu pero con vpx en HIV-2). Tres de los genes reguladores tat, rev y nef, juegan un papel muy importante en la regulación de la expresión viral.

El gen tat codifica una proteína activadora, está compuesto de 2 secuencias codificadoras que se encuentran separadas en el genoma y que tienen la información genética para producir una proteína difusible de 86 aminoácidos (aa) la cual, al interactuar con las secuencias de los LTR, aumenta la expresión de los genes de HIV y por lo tanto la producción de nuevas partículas virales. La proteína tat reconoce una secuencia nucleotídica corta, localizada dentro del LTR 5' de los transcritos de RNAm del HIV. En estudios realizados con los productos del gen tat de ambos tipos de HIV se ha observado que la proteína tat de HIV-1 actúa igual en los LTRs de los 2 tipos de HIV, mientras que la proteína equivalente en HIV-2 no es activa en el LTR de HIV-1. Esta activación cruzada incompleta ha sido atribuida al hecho de que el LTR de HIV-2 además del grupo de secuencias blanco que son comunes a ambos virus, tiene secuencias únicas que sólo responden al transactivador producido por él mismo.

El gen rev (regulador de la expresión de proteínas virales), al igual que tat está formado por 2 exones que codifican una proteína de 116 aa. Esta proteína es esencial para regular el procesamiento del RNAm y el transporte del RNAm completo del núcleo al citoplasma.

El gen *nef* (regulador negativo) produce una proteína cuya función es disminuir o detener la expresión viral. Su secuencia blanco se encuentra en el LTR. Se cree que *nef* también ayuda al HIV a permanecer latente dentro del DNA de la célula huésped.

El balance de la acción de los productos reguladores de *tat*, *rev* y probablemente *nef* determina la manera en que el virus se manifiesta en un momento dado y, por lo tanto, podría definir el desarrollo de la infección y el que ésta sea controlada, latente o lítica. Se cree que este fenómeno de regulación positiva/negativa está relacionado con la patogenicidad de las distintas cepas (9).

Por otra parte, la proteína producida por el gen vif se encuentra en las partículas virales maduras, es muy conservada entre las distintas cepas (aún de HIV-2) y si muta no se afecta la duplicación viral. Se ha probado que la proteína codificada por vif controla la actividad de las partículas virales libres, las cuales disminuyen considerablemente su capacidad infectiva si el gen sufre mutaciones.

En cuanto al producto de *vpr*, hay muy poca información. Se sabe que induce anticuerpos en individuos infectados y parece participar en el aumento de la producción de virus.

Los 2 tipos de HIV tienen un sexto gen regulador, vpu para el caso de HIV-1 y vpx para HIV-2; este último también se encuentra en SIV. El producto del gen *vpu* parece estar relacionado con el fenómeno de ensamblaje y liberación de partículas virales de las células infectadas.

La proteína vpx se encuentra asociada a las partículas maduras y aunque se desconoce su función, recientemente se ha visto que las partículas virales producidas por una clona de HIV-2 mutada en el gen vpx no pueden infectar linfocitos humanos frescos y sí pueden infectar células de líneas tumorales CD4+, indicando que tal vez participa en el proceso de entrada del virus a algunos tipos de células. Además de los marcos de lectura abiertos, todos los genomas tienen unas regiones llamadas terminales repetidas largas (LTR) esenciales para la transcripción reversa, la integración y la transcripción del DNA viral. Los LTR están constituidos por 3 regiones: U3, R y U5. Se sabe que en R está la secuencia blanco para la proteína del gen tat, además juega un importante papel durante la transcripción reversa ya que permite la tranferencia del DNA en formación de un extremo del genoma a otro. U3 es un promotor funcional de la transcripción y en esta región se encuentra el elemento regulador negativo. U5 tiene regiones esenciales para la iniciación de la transcripción reversa y otras que son necesarias para la integración del genoma viral al celular. Aunque funcionalmente son muy parecidos, todos los elementos de los LTR de HIV-2 son más largos que en HIV-1, U5 es de 125, U3 de 556 y R de 173 pares de bases y en HIV-1 son de 82, 456 y 97 pares de bases respectivamente (10).

El análisis de los productos de transcripción de HIV-2 indica que éstos son similares a los del HIV-1: un RNAm de 9 Kb que corresponde al transcrito completo y 3 tipos de RNAm procesados de 5, 4.5 y 2 Kb.

CICLO VIRAL

La infección empieza con la unión del virus por medio de su glicoproteína externa gp120 a un receptor celular, que se ha identificado como la molécula CD4. La presencia de esta proteína en una célula marca su susceptibilidad a ser infectada por el HIV.

El dominio de gp120 responsable de la interacción con CD4 está localizado en la zona carboxilo terminal de la molécula, alrededor del aa 400. La unión de gp120 a CD4 es el primer paso del ciclo y la fusión subsecuente de las membranas requiere posiblemen-

te de gp41 localizada en la membrana viral y de otros factores celulares. Recientemente, se ha encontrado que uno de estos factores es la dipeptidil peptidasa IV (DPP IV), también conocida como CD26. Esta proteasa de serina corta los substratos en secuencias específicas, las cuales están altamente conservadas en un asa formada entre dos cisteínas en la región variable 3 de la glicoproteína externa de HIV-1, HIV-2 y SIV.

Una vez en el citoplasma, la nucleocápside se desintegra y son liberados el RNA y la enzima TR. Después de una serie de procesos entre los cuales destacan la unión de un tRNA^{Lys} como iniciador de la polimerización a uno de los extremos del genoma viral y la duplicación de ambos extremos del RNA para completar la estructura U3-R-U5 de los LTR, se inicia la síntesis de DNA por la TR que utiliza como molde el RNA genómico viral; a ésto sigue la degradación de la hebra de RNA del híbrido DNA-RNA mediante la actividad de RNAasa H de la misma enzima, la duplicación de la cadena de DNA y la integración del provirus en el genoma del hospedero mediante la acción de la integrasa (p31) que también está codificada por el gen pol. La célula queda así infectada y con el virus integrado en forma permanente.

Después de un periodo variable, en el cual el virus integrado permanece en estado de latencia en la célula infectada, el genoma viral comienza a expresarse y transcribe y traduce los genes tanto estructurales como reguladores. Se cree que esta expresión es provocada por algún estímulo antigénico sobre la célula, que en condiciones normales desencadena la síntesis de RNA celular, pero que en células infectadas provoca la síntesis simultánea del RNA viral, que utiliza la maquinaria enzimática celular para la transcripción.

Al parecer la expresión temprana de los genes virales desemboca en la síntesis de las proteínas reguladoras. Se han encontrado una gran variedad de RNAm producidos por procesamiento de transcritos de casi la totalidad del genoma viral, de los cuales se originan los mensajeros para las diferentes proteínas reguladoras.

En la expresión tardía del virus se producen las proteínas estructurales. De un transcrito viral de casi

la longitud total del provirus, se sintetiza el precursor de envoltura, que es glicosilado en el aparato de Golgi y posteriormente es cortado en las unidades gp120 y gp41. Estas proteínas se integran en la membrana de la célula infectada.

De un segundo transcrito viral que incluye los genes gag y pol, se sintetizan las proteínas de la nucleocápside, así como las enzimas virales. Este transcrito viral es traducido como un precursor de 180 kDa, el cual se une en un extremo a la membrana celular. Mientras el precursor permanece anclado a la membrana, la proteasa, codificada por este mismo marco de lectura, madura a través de un proceso de autocatálisis y permite el procesamiento de las diferentes proteínas de la nucleocápside; p17 queda unida a la membrana, p24 forma la cápside del virus y p15 se corta en p7 y p9, que se asocian a dos moléculas de RNA de 9.3 Kb, que son acarreadas hacia la nucleocápside en formación.

Conforme madura la nucleocápside se va formando una nueva partícula viral, la cual es liberada por exocitosis y es capaz de transmitir la infección a otras células (11 y 12).

ANTIGENICIDAD

Todas las proteínas codificadas por los genes estructurales de ambos tipos de HIV son inmunogénicas in vivo (Tabla I).

De los estudios realizados para ver el grado de reactividad cruzada entre HIV-2 y HIV-1, se encontraron anticuerpos contra proteínas codificadas por los genes gag y pol de HIV-1 en la mayoría de la gente infectada con HIV-2. En estos estudios no se encontró reactividad cruzada con las glicoproteínas de la envoltura (13).

Como sucede con otros virus, se ha observado que las proteínas de su parte interna son las que más se conservan y son grupo específicas. En cambio, las proteínas de la envoltura son las que se conservan menos y son específicas de tipo.

Los estudios de neutralización han mostrado que una gran proporción de sueros HIV-2 positivos son capaces de neutralizar aislados de HIV-2 y, además, algunos aislados de HIV-1. En cuanto a la neutralización de aislados de HIV-2 por sueros

TABLA I

PRODUCTOS PROTEICOS Y FUNCIONES DE LOS GENES ESTRUCTURALES Y REGULADORES DE HIV-1 Y HIV-2. *VPX SOLAMENTE ESTÁ PRESENTE EN HIV-2, EN SUBSTITUCIÓN DE VPU QUE ES EXCLUSIVO DE HIV-1.

GEN	PROTEINA		FUNCION	
	HIV-1	HIV-2		
gag	p55 p18	p55 p16	Proteinas de la nucleocápside	
	p24	p24		
sbits	p15	p12	en unas regiones Ilan	
pol	p12	p12	Proteasa	
	p66/51	p66	Transcriptasa reversa	
èU v	p31	p31	Integrasa	
env	gp160 gp120	gp140 gp110	Glicoproteina externa	
ther	gp41	gp3241	Glicoproteina transmembranal	
vpr	p18	p12	Desconocida	
vpu	p15	iomine ni	Liberación de particulas virales	
*vpx	nouon5 s	p15	Desconocida	
vif	p23	p25	Factor de infectividad viral	
tat	p14	p11	Regulador positivo	
rev	p19	p14	Modulador de la expresión de proteínas estructurales	
nef	p27	p28	Regulador negativo	

positivos a HIV-1, existe un poco de controversia ya que hay reportes en que encuentran que los sueros positivos a HIV-2 pueden neutralizar cepas de HIV-1 y de HIV-2, aunque con el virus heterólogo el título de neutralización es menor y que los sueros positivos a HIV-1 únicamente neutralizan cepas de HIV-1. En otros estudios, encuentran que la neutralización cruzada es bidireccional y que con el virus heterólogo los títulos de neutralización son menores.

Se han probado casos de infecciones dobles con HIV-1 y HIV-2 en pacientes de Africa, donde ambos tipos de virus son endémicos. Sin embargo, en otros países como los Estados Unidos de América, Francia, Italia, Inglaterra y algunos países de América Latina como Brasil, Honduras y Chile, se han reportado casos de reacciones cruzadas entre las glicoproteínas de envoltura en especial con gp110 de HIV-2, en individuos en los cuales únicamente ha sido confirmada la infección con HIV-1 (14). En México, se ha encontrado que el 9% de los sueros positivos

TABLA II

SIMILITUDES OBSERVADAS EN AMINOÁCIDOS DE DIFERENTES REGIONES DEL HIV.

REGION	HIV-1 _{USA} /HIV-1 _{AFR}	HIV-1 _{USA} /HIV-2 _{ROD}
LTR	85%	30-40%
GAG	90%	58%
POL	95%	59%
ENV	72-80%	42%
gp externa	75-80%	39%
gp transmembranal	85%	45%
tat	70%	43%
rev	52%	45%
nef	63%	38%
regarded vif	83%	35%
vpr 198	65%	53%

Las cepas de HIV-1 que se comparan son la cepa MN aislada en los Estados Unidos de América: HIV-1(USA) y la cepa ELI aislada en Africa: HIV-1(AFR). La secuencia de HIV-2 corresponde a la cepa ROD de HIV-2. Las secuencias se obtuvieron de la base de datos de los Alamos (Myers G, Rabson AB, Berzofsky JA, Smith TF, Wong-Staal F (1990) Human Retroviruses and AIDS, a compilation and analysis of nucleic acid and amino acid sequences. Theoretical Biology and Biophysics, Los Alamos, New Mexico pp 1A74, 1A123, 1B46).

a HIV-1 presentan reactividad cruzada con la glicoproteína externa y el 24% con la glicoproteína transmembranal de HIV-2, no habiéndose confirmado en ningún caso infección doble (15).

SIMILITUD EN LAS PROTEINAS DE HIV-1 Y HIV-2

Al comparar las secuencias de aa de HIV-1 y HIV-2 se ha observado que las proteínas más conservadas son las codificadas por los genes gag y pol (58 y 59% de similitud respectivamente). En la tabla II se presentan los datos de similitud encontrados al comparar las secuencias de aa de los productos proteicos de los genes estructurales y reguladores de HIV-1 y HIV-2. Como puede observarse, la proteína estructural que presenta menor similitud tanto entre cepas de HIV-1 divergentes (americana y africana) como con HIV-2 es la gp externa. Esta glicoproteína presenta pequeñas regiones de alta similitud, las cuales están localizadas en zonas altamente conservadas entre diferentes aislados de HIV-1 y que podrán corresponder a dominios funcionalmente importantes para la infectividad viral.

La glicoproteína transmembranal de todos estos virus es un poco más conservada que la gp externa, ya que presenta una similitud del 45% entre HIV-1 y HIV-2 y entre aislados de HIV-1 su variabilidad es menor (10).

CONCLUSIONES

En esta breve descripción de los virus de inmunodeficiencia humana se pueden apreciar los grandes avances que se han logrado con respecto al conocimiento de dos agentes infecciosos que hasta hace 11 años no eran conocidos. Estos virus han planteado un gran reto a las ciencias médicas por su gran complejidad y su alta patogenicidad. A pesar del amplio conocimiento que se tiene sobre ellos aún no se logra prevenir el proceso de infección ni tampoco lo más importante en este momento, por el gran número de personas infectadas, que es detener la progresión de la enfermedad.

REFERENCIAS

- 1. Barre-Sinoussi F, Cherman J C, Rey F, Nugeyre M T, Chamaret S, Bgruest J, Dauguet C, Axler-Blin C, Brunvezinet F, Rouzioux C, Rozenbaum W, Montagnier L (1983) Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for AIDS. Science 220: 868-871.
- 2. Kanki P J, Barin F, M'Boup S, Allan J S, Romet-Lemonne J L, Marlink R, McLane M F, Lee T H, Arbeille B, Denis F, Essex M (1986) New human T-lymphotropic retrovirus related to simian T-lymphotropic virus type III (STLV-IIIAGM). Science 232: 238-243.
- 3. Centers for Disease Control (1992) Testing for antibodies

- to human immunodeficiency virus type 2 in the United States. MMWR 41: 1-9.
- 4. Clavel F, Guetard D, Brun-Vezinet F (1986) Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. Science 233: 343-346.
- Sattentau Q J, Clapham P R, Weiss R A, Beverley P C L, Montagnier L, Alhalabi M F, Gluckman J C, Klatzman D (1988) The human and simian immunodeficiency viruses HIV-1, HIV-2 and SIV interact with similar epitopes on their cellular receptor, the CD4 molecule. AIDS 2: 101-105.

- 6. Kong L I, Lee S W, Kappes J C, Parkin J S, Decker D, Hoxie J A, Hahn B H, Shaw G M (1988) West African HIV-2 related retrovirus with attenuated cytopathicity. Science 240: 1525-1529.
- 7. Pepin J, Morgan G, Dunn D, Gevao S, Mendy M, Gaye Y, Scollen N, Tedder R, Whittle H (1991) HIV-2-induced immunosupression among asymptomatic West African prostitutes: evidence that HIV-2 is pathogenic, but less so than HIV-1. AIDS 5: 1165-1172.
- 8. Marlink R, Kanki P J, Thior Y, Travers K, Eisen G, Siby T, Traore Y, Hsien C, Dia M C, Gueye E, Hellinger J, Gueye-Ndiaye A, Sankale J, Ndoye Y, Mboup S, Essex M (1994) Reduced rate of disease development after HIV-2 infection as compared to HIV-1. Science 255: 1587-1590.
- Haseltine W A, Wong-Staal F (1988) The molecular biology of the AIDS virus. Scientific American 259(4): 34-42.
- Guyader M, Emmerman M, Sonigo P, Clave F, Montagnier L, Alizon M (1987) Genome organization

- and transactivation of the human immunodeficiency virus type 2. Nature (London) 326: 662-669.
- McCune J M (1991) HIV-1: The infective process in vivo. Cell 64: 351-363.
- 12. Cullen B R (1991) Human immunodeficiency virus as a prototypic complex retrovirus. J Virol 65: 1053-1056.
- Barin F, Denis F, Baillou A, Leonard G, Mounier M, M'Boup S, Gershy-Damet G, Sangare A, Kanki P, Essex M (1987) A STLV-III related human immunodeficiency retrovirus HTLV-IV: analysis of cross reactivity with the human immunodeficiency virus (HIV). J Virol Methods 17: 55-61.
- Evans LA, Odehouri K, Thomson-Honnebier G, Barboza A, Moreau J, Seto D, Legg H, Cheng-Mayer C, Levy J A (1988) Simultaneous isolation of HIV-1 and HIV-2 from an AIDS patient. Lancet 2: 1389-1391.
- 15. Valadez N (1995) Relación inmune y molecular entre los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 y tipo 2. Tesis de Maestría en Ciencias (Biología Celular). Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

vezinet F, Rouzioux C, Retenbaum W, Montagnier I

MOTOO KIMURA 1924 A 1994

En Noviembre de 1994, en Mishima, Japón, a la edad de 70 años, murió el genetista Motoo Kimura, que en 1992 recibió de la Real Sociedad de Londres la medalla Darwin y que fuera el autor del famoso trabajo intitulado "Evolutionary rate at the molecular level", que publicó en la revista Nature en 1968 (217:624 a 625). En este artículo argumentó que los cálculos de la tasa de evolución, en términos de substitución de nucleótidos, parecen dar un valor tan alto que muchas de las mutaciones ocurridas deben ser neutras. Con esta base propuso que las causas principales de la evolución molecular son la presión de la mutación y la deriva génica al azar y no el proceso de la selección natural darwiniana. En un principio su propuesta fue muy criticada, pero en la actualidad tiene una aceptación amplia y como se verá más adelante constituye un campo activo de investigación.

Según Dobzhansky, Ayala, Stebbins y Valentine, en su obra de 1977, "Evolution", fueron los trabajos de King y Jukes (Science, 164:788 a 798, 1969), Crow y Kimura (An introduction to population genetics theory, Harper and Row, New York, USA, 1970), Kimura y Ohta (Nature, 229:467 a 469, 1971) y Nei (Molecular population genetics and evolution, American Elsevier, New York, USA, 1975), entre otros, los que sirvieron de base para proponer que "... la mayoría de los cambios por mutación al nivel molecular, una parte significativa de los polimorfismos que se encuentran en las poblaciones naturales, no son ni útiles ni perjudiciales para los que las poseen, simplemente son neutras. La selección natural no promueve ni discrimina contra las variantes neutras. Su destino en la población está determinado por el azar".

Más adelante Dobzhanky et al. escriben: "Las teorías que reconocen a la selección natural como el único proceso que guía a la evolución, en ocasiones se califican de panseleccionistas. Las teorías que suponen la neutralidad de la mayoría de las variantes genéticas se pueden denominar panneutralistas". En el cápitulo 9 de la obra de estos investigadores ya referida, intitulado "Filogenias y

macromoléculas" comentan que los autores que apoyan el punto de vista panneutralista "... admiten que la evolución de los caracteres morfológicos, de comportamiento y ecológicos están ampliamente gobernados por la selección natural. Sin embargo proponen que la evolución de la mayoría de las proteínas y de los genes que las codifican, se debe en gran parte al azar. La teoría neutral de la evolución de las proteínas supone que, para cualquier gen, una proporción importante de sus mutantes posibles son dañinas para sus portadores; estos mutantes son eliminados o mantenidos en frecuencias muy bajas por la selección natural. Sin embargo una fracción grande de mutaciones se consideran adaptativamente equivalentes. Debido a que estos mutantes no afectan la eficiencia reproductora relativa (fitness) de los portadores, no están sometidos a la selección natural. De acuerdo con la teoría neutral, la evolución al nivel molecular consiste en su mayor parte en el reemplazo gradual de una secuencia de aminoácidos por otra funcionalmente equivalente a la primera. La teoría supone que no obstante que ocurran mutaciones favorables, son tan raras que tienen poco efecto sobre la tasa total evolutiva de substitución de aminoácidos".

Acerca del reloj molecular de la evolución Dobzhansky v sus colaboradores opinan en estos términos: "Si la teoría neutral de la evolución de las proteínas fuera correcta para un gran número de estas moléculas, su significado para el estudio de la filogenia sería muy importante. Debido a que la cantidad esperada de substitución de alelos para los alelos neutros es simplemente la proporción en la que los alelos neutros aparecen por mutación. Para un gen determinado, la proporción de mutación es posible que permanezca muy constante durante períodos largos de tiempo evolutivo. Por lo tanto, se espera que las substituciones alélicas ocurran a una proporción constante. La evolución de las proteínas y los genes podría servir como relojes evolutivos. Primero, el grado de diferenciación de una proteína entre las especies sería una medida de su relación filogenética. Segundo, el

tiempo "cronológico" real de los diversos fenómenos filogenéticos se podría estimar. Si el tiempo
geológico real de cualquiera de los fenómenos en
un árbol filogenético se conociera a partir de
alguna fuente externa (tal como el registro
paleontológico), el tiempo de todos los demás fenómenos se podría determinar por una simple proporción. Esto es, una vez que el reloj molecular se ha
"calibrado" con una referencia a un solo fenómeno, se puede usar para medir el tiempo en que
ocurrieron todos los demás fenómenos en la
filogenia.

Por último Dobzhanzky y sus colaboradores concluyen: "... las macromoléculas informacionales como las proteínas y los ácidos nucleicos contienen información significativa acerca de la filogenia. Las proporciones de la evolución molecular no son constantes, sin embargo los cambios en las proteínas se pueden usar como un reloj evolutivo aproximado cuando son promediadas con muchas proteínas y organismos. La aplicación al estudio de la filogenia de la secuenciación de proteínas es un campo científico más bien joven. Hay pocas razones para dudar que en el futuro el estudio de las proteínas y los ácidos nucleicos originará contribuciones cada vez más significativas para nuestro conocimiento del registro evolutivo.

El mismo profesor Kimura, en una versión de su trabajo publicada en la revista Scientific American en 1979 (241[5]:94 a 104), con el título de "The neutral theory of molecular evolution", escribe: "La teoría darwiniana de la evolución por medio de la selección natural está firmemente establecida entre los biólogos. La teoría sostiene que la evolución es el resultado de la interacción entre la variación y la selección. Dentro de una especie, en cada generación, se produce una gran cantidad de variación por la mutación de los genes y por la distribución al azar de los genes en la reproducción. Los individuos cuyos genes dan origen a los caracteres que están mejor adaptados al ambiente serán los más capacitados para sobrevivir, reproducirse y dejar sobrevivientes que a su vez se reproduzcan. Las especies evolucionan por la acumulación de genes mutantes adaptativos y por los caracteres originados por esos genes. Desde este punto de vista cualquier alelo mutante, o forma mutada de un gen, es más adaptativo o menos adaptativo que el alelo del que se deriva. Sólo se incrementará en la población si pasa la prueba rigurosa de la selección natural. Por más de una década yo he apoyado un punto de vista diferente. Pienso que la mayoría de los genes mutados, que sólo se detectan por las técnicas químicas de la genética molecular, son selectivamente neutros, es decir, adaptativamente no son ni más ni menos ventajosos que los genes que reemplazan; al nivel de las moléculas la mayoría de los cambios evolutivos se producen por la deriva al azar de genes mutantes selectivamente equivalentes".

Más adelante dice: "Debo aclarar que la teoría neutral no supone que los genes neutros no tengan una función sino sólo que varios alelos pueden ser igualmente eficientes en promover la sobrevivencia y la reproducción del individuo. Si un alelo mutante codifica aminoácidos diferentes en una proteína, la proteína modificada sólo requiere de funcionar tan bien como la forma original; no es necesario que sea precisamente equivalente".

Ya para terminar ese trabajo el profesor Kimura concluye: "La selección darwiniana actua principalmente sobre los fenotipos originados por la actividad de muchos genes. Las condiciones ambientales con toda seguridad juegan un papel decisivo en determinar que fenotipos son seleccionados; la selección darwiniana, o positiva, se interesa poco por la forma en que esos fenotipos son determinados por los genotipos. Las leyes que gobiernan la evolución molecular son claramente distintas de aquellas que gobiernan la evolución del fenotipo. Aún cuando el principio darwiniano de la selección natural prevalece como la determinante de la evolución al nivel del fenotipo, al nivel de la estructura interna del material genético una buena proporción de los cambios evolutivos es impulsada por la deriva al azar. No obstante que este proceso azaroso es lento e insignificante en el marco de tiempo de la existencia efimera del humano, en el tiempo geológico origina cambios en una escala enorme".

En una búsqueda en la base de datos MEDLINE, en que se utilizó el perfil formado por los términos teoría, neutral, evolución y molecular, que incluyó de Enero de 1991 a Enero de 1995, se registraron 23 trabajos, publicados por autores australianos, españoles, estadounidenses, galeses, ingleses, japoneses

y rusos; en revistas como Biosystems, Genetics, Japan Journal of Genetics, Journal of Biological Chemistry, Journal of Molecular Evolution, Molecular and Biological Evolution, Mutation Research, Proceedings of the National Academy of Science USA y Theoretical Population Biology, entre otras, lo que demuestra el interés que existe sobre la teoría propuesta por el profesor Kimura.

Dentro de ellos se encuentran los trabajos intitulados "Desarrollos recientes de la teoría neutral desde el punto de vista de la tradición Wrightiana de la genética de poblaciones teórica" y "La teoría neutral de la evolución molecular: una revisión de evidencias recientes", escritos por el profesor Kimura. En el resumen del segundo, publicado en 1991 en la revista japonesa Idengaku-Zasshi (66[4]: 367 a 386), se lee: "En este artículo reviso algunas observaciones recientes que apoyan fuertemente la teoría neutral. En éstas se incluyen los genes de las pseudoglobinas del ratón, los genes de la A-cristalina del topo, los genes del virus A de la influenza y los genes nucleares vs mitocondriales de la mosca de la fruta. También discuto asuntos tales como la evolución de los sistemas de los códigos desviados en los micoplasmas, el origen de la vida y la

que diot abravandolo, le dilo emocionado "Mi

comprensión unificada de la evolución molecular y fenotípica. Concluyo que desde el origen de la vida en la Tierra, los cambios evolutivos neutrales han predominado sobre los cambios evolutivos darwinianos, cuando menos en número".

El trabajo publicado en Scientific American termina con la siguiente frase, que aún hoy resulta muy adecuada, como justificación de un trabajo científico que indudablemente abrió nuevos caminos al entendimiento de los fenómenos de la vida, como el que realizaron el profesor Kimura y su grupo: "Las personas me han dicho, tanto de manera directa como indirecta, que la teoría neutral no es biológicamente importante debido a que los genes neutros no participan en la adaptación. Mi propio punto de vista es que lo que resulta importante es encontrar la verdad, y que si la teoría neutral es una hipótesis de investigación válida, entonces el establecer la teoría, probarla contra los datos y defenderla es una empresa científica que vale la pena".

Jesús Manuel León Cázares María Teresa Elizabeth Flores Rodríguez Instituto de Fisiología Celular Universidad Nacional Autónoma de México

estudios sobre los tartratos y paratartratos. El año

LOUIS PASTEUR 1822 A 1895

El gran científico humanista, que el día de su jubileo se había definido como: "Un hombre que cree que la ciencia y la paz triunfarán sobre la ignorancia y la guerra, que los pueblos se pondrán de acuerdo, no para destruir, sino para edificar y que el porvenir pertenecerá a quienes más hayan hecho por la humanidad sufriente", murió el 28 de septiembre de 1895. Portal motivo, la comunidad científica mundial declaró el año en curso El Año Pasteur. Estas líneas reseñan brevemente, a manera de recordatorio, los trabajos de Louis Pasteur.

Un viernes, el 27 de diciembre de 1822, en la ciudad de Dole, en el Jura, Jeanne-Etiennette dio a luz un hijo, Louis Pasteur. Su padre fue Jean Joseph Pasteur, quien fuera sargento mayor del ejército napoleónico. Algunos años más tarde, la familia, que había aumentado con otros tres hijos, se trasladó a Arbois en cuyo colegio Pasteur cursó sus estudios primarios. El director de este Instituto, el profesor Romanet lo entusiasmó para que continuara con sus estudios preparatorios en París, hacia donde se dirigió en los últimos días de octubre de 1838, en compañía de su amigo Jules Vercel. Sin embargo, apenas un mes después de su llegada a París, debido a la nostalgia por su familia, Louis retomaba el camino hacia Arbois. Poco después continuó sus estudios en Besançon en donde el 13 de agosto de 1842 obtuvo el bachillerato en ciencias matemáticas. Al final del año lectivo de 1843 fue admitido en la Escuela Normal Superior en París, donde apasionado por los cursos de química del profesor JB Dumas en la Sorbona pasaba todos los domingos trabajando en el laboratorio al lado de Barruel, ayudante del profesor Dumas. Un año después, en 1844, comienza sus estudios sobre los tartratos y paratartratos. El año de 1847 bajo la dirección del profesor Balard recibe el grado de doctor en física y química con la tesis en química: "Investigaciones sobre la capacidad de saturación del ácido arsénico. Estudios sobre los arsenitos de potasio, sodio y amoníaco". La tesis de física versaba sobre: "Estudios sobre los fenómenos relativos a la polarización rotatoria de los líquidos". Helo aquí doctor en ciencias; sin embargo, a pesar del valor de sus trabajos Pasteur no los consideraba sino tanteos iniciales y empieza sus estudios de cristalografía que presenta el 20 de marzo de 1848 en la Academia de Ciencias: "Investigaciones sobre el dimorfismo", concerniente a las sustancias, como el azufre, que pueden cristalizar en dos sistemas distintos. Pasteur no era sólo un científico. Idealista y patriota, lo había conmovido profundammente la revolución de 1848, en la cual veía el anuncio de una república generosa y fraterna. Las palabras bandera y patria lo conmovían y el ejemplo de Lamartine, gran poeta convertido en tribuno, seducía su espíritu romántico. Se enrola en la Guardia Nacional y un día, al pasar por la plaza del Odeón, entrega todas sus economías (150 francos) al altar de la Patria. Por entonces estaba de actualidad en la física el problema de los ácidos tartárico y paratartárico o racémico; este problema continuaba intrigando a los grandes científicos de la época, quienes habían tratado vanamente de resolverlo. Con un rasgo de genio, el joven Pasteur, todavía casi desconocido, resuelve el problema, triunfando sobre una cuestión que parecía insoluble a científicos como Mitscherlich y Biot. En el ambiente académico se comenzaba a hablar de los trabajos del joven científico; J B Dumas oía gravemente lo que le contaba de ellos Balard. Biot, el viejo Biot de 75 años, se informaba con una insistencia un poco escéptica "¿Está usted seguro?", preguntaba, dudando de que un problema que había desanimado a Mitscherlich pudiese ser resuelto por un joven doctor recién salido de la Escuela Normal, "Será necesario examinar minuciosamente los resultados obtenidos por este joven". Sin embargo los resultados de Pasteur fueron tan convincentes que Biot, abrazándolo, le dijo emocionado "Mi querido muchacho, he amado tanto las ciencias en mi vida que todo esto me hace palpitar el corazón". Pasteur en su trabajo escribía "...Se ha arrojado la luz más viva sobre la causa del fenómeno de la polarización rotatoria y sobre la hemiedría en los cristales; se ha descubierto una nueva clase de sustancias isómeras, se ha determinado la constitución, insospechada y hasta ahora sin ejemplo, del ácido racémico, y se ha abierto a las ciencias un gran camino nuevo e imprevisto". Con estos estudios y la influencia de Biot, el 15 de enero

de 1849, se le nombra profesor suplente de química en la Universidad de Estrasburgo. En esta ciudad conoce a Marie Laurent, hija del rector de la Universidad, con quien se casa el 29 de mayo de 1849. Posteriormente en septiembre de 1854, Pasteur es nombrado profesor y decano de la nueva Universidad de Lila. En la carta, llena de elogios, unida al decreto de su nombramiento, el Ministro de Instrucción Publica, Fortuol, insistía en el papel activo que debe tener un profesor de ciencias en una región industrial como la de Lila. Pronto Pasteur tuvo ocasión de poner en práctica estos consejos. Gracias a un industrial, Bigo, padre de uno de sus alumnos, en 1856 Pasteur ingresó en el mundo de las fermentaciones ya que Bigo hallaba grandes dificultades en la fabricación del alcohol de remolacha. Un simple examen microscópico reveló a Pasteur que las malas fermentaciones era provocadas por microorganismos en forma de bastoncillos, que vivían como parásitos en la levadura preparada. Por consejo de Pasteur, Bigo obtuvo levaduras "limpias" y las malas fermentaciones terminaron.

Después de un fallido intento de ingresar a la Academia de Ciencias, reanudó sus investigaciones sobre la fermentación, pero esta vez sobre la fermentación de la leche. El resultado de estas nuevas investigaciones aparecieron en agosto de 1857, en la forma de una "Memoria sobre la fermentación láctea", presentada en la Sociedad de Ciencias de Lila. Pasteur se halló en lo sucesivo en condiciones de provocar a voluntad cualquier fermentación y de establecer cuales eran los gérmenes determinantes y su mecanismo químico. Al estudiar la fermentación butírica de la manteca, sus experiencias lo llevaron a descubrir una nueva forma de vida aún más extraordinaria, la vida en un ambiente privado de oxígeno. Al examinar en el microscopio, entre lámina y vidrio, la gota de un líquido que estaba sufriendo un proceso de fermentación butírica comprobó con estupor que en los bordes del vidrio las bacterias perdían su movilidad, mientras que seguían desplazándose ágilmente en la zona central, donde no había aire. Entonces: ¿es posible la vida en ausencia de aire? Para contestar esta pregunta, contraria a todos los conocimientos sobre la vida, Pasteur hizo pasar una corriente de aire a través de un líquido en fermentación butírica; ésta se detuvo de inmediato. Para referirse a estos seres que sólo pueden vivir en ausencia de aire, acuñó el término de

anaerobio mientras que a los seres que no pueden vivir sin oxígeno los llamó aerobios. Este descubrimiento llevará a Pasteur muy lejos...

El 30 de enero de 1869 la Academia de Ciencias confirió a Pasteur el Gran Premio de Fisiología Experimental. Este mismo mes escribía a su amigo Chappuis "....Espero dar pronto un paso decisivo para resolver sin la menor confusión el famoso problema de la generación espontánea...." No era una cuestión nueva, por cierto, ya que en el siglo I ac, Diodoro Sciculo daba como seguro que el limo del Nilo, calentado por el sol, podía generar animales "de tamaño extraordinario". Más tarde, innumerables científicos y filósofos como Lucrecio, Ovidio, Aristóteles, Plinio el viejo, Ambrosio Paré, Buffon, Needham, Spallanzani, Voltaire y otros muchos tomaron posición en el problema, si bien después de Spallanzani y Voltaire la balanza se inclinaba cada vez más a favor de los adversarios de la generación espontánea. Para sus experimentos Pasteur se sirvió de un matraz de vidrio de 250 ml con agua de la levadura de cerveza. Con un soplete curvaba y afilaba el cuello, dejándole abierto el extremo. Hacía luego hervir el líquido para esterilizarlo y eliminar el aire. Durante la ebullición cerraba el extremo del matraz y lo dejaba enfriar. Durante los primeros meses de 1860 Pasteur comenzó a abrir estos matraces en los lugares más diversos: calles de París, cantinas, sobre la cumbre del monte Poutet, etc. De diez matraces abiertos en las cantinas del Observatorio sólo en uno se había alterado su contenido.

Al final sus resultados fueron publicados en una memoria "Examen de la doctrina de las generaciones espontáneas", de la cual Tyndall escribió: "Raramente como en este ensayo inmortal, la claridad, la fuerza y la conciencia se han manifestado de manera más sorprendente, junto a una consumada habilidad en la ejecución".

Oriundo de una región vinícola, Pasteur dedicó tiempo al estudio del vino. Sus Estudios sobre el vino, aparecidos en 1866 fueron la fuente de perfeccionamiento en la técnica vinícola. Cada vez que se le pedía que luchara contra una enfermedad, ya sea del vino o de la cerveza, comprobaba que la causa era una fermentación defectuosa, viciada por bacterias. Para destruirlas experimentó muchos métodos utilizando hiposulfitos, bisulfitos y otra

sales; el fracaso en ellos lo indujo a considerar la acción del calor. Teniendo en cuenta la vulnerabilidad de los microorganismos productores de vino, Pasteur logró establecer que una temperatura de 55°C mantenida durante corto tiempo basta para destruir los gérmenes nocivos y asegurar la conservación del producto tratado. Conocido en el mundo entero con el nombre de pasterización, este procedimiento constituye un homenaje popular al científico.

En 1865 comenzó en Alais su lucha contra las enfermedades de los gusanos de seda que debía durar cinco años de enfrentar terribles dificultades técnicas y a menudo el escepticismo. Sin embargo, aunque estableció las medidas profilácticas para prevenir la enfermedad que producía la flaccidez de los gusanos, no pudo descubrir su agente causal debido más que nada a los recursos existentes por aquella época. Mucho tiempo después se demostró que la enfermedad era causada por un virus. En 1876, Pasteur decide dedicarse a un nuevo problema, el del carbunclo, enfermedad que hacía estragos entre el ganado y que a veces también atacaba a los humanos. Pasteur ignoraba por entonces que en Alemania, Koch hacia ya muchos años que había aclarado todo el ciclo del bacilo del carbunclo. Pasteur no había oído hablar nunca de él hasta que vio la publicación de la memoria sobre la Etiología de las enfermedades infecciosas traumáticas. Pero quedaba por determinar un punto. Aunque Koch había trasplantado su cultivo ocho veces, esto no era suficiente para demostrar que no había trasladado otros elementos junto con los bacilos. Después de mucho trabajo Pasteur logró identificar el bacilo del y provocar carbunclo en estado puro experimentalmente la enfermedad.

En 1878 Pasteur abordó el estudio del cólera de los pollos. Observó que si bien los conejos son tan sensibles como los pollos, los cobayos no lo son; no mueren, sólo presentan una lesión cutánea que desemboca a un absceso. El pus de este absceso contiene en gran abundancia los microbios del cólera; inyectado a los pollos, estos mueren después de 24 horas. Al poco tiempo Pasteur pudo observar hechos análogos al estudiar otras enfermedades. Esta noción del individuo sano portador de gérmenes fue una novedad asombrosa para Pasteur. En 1879 interrumpió sus estudios sobre el cólera para tomar unas vacaciones, al regresar al laboratorio descubrió

que todos los cultivos que había dejado se habían hecho estériles. Se trató de vivificarlos con siembras frescas; sin embargo todos los intentos fracasaron, estaba a punto de tirar los cultivos cuando tuvo la idea genial de inyectar a algunos pollos con esos cultivos. La reacción fue débil y, después de unos días de fiebre, las gallinas reiniciaron su vida normal en las jaulas del laboratorio. No mucho tiempo después, Pasteur, acuciado por la curiosidad científica, inoculó a las gallinas, que ya habían soportado la inoculación con los cultivos atenuados, con cultivos virulentos y vio con asombro que las gallinas toleraban muy bien la segunda inoculación, la cual, sin embargo, era mortal para las gallinas control. Pasteur llamó a su descubrimiento vacunación en honor a Jenner quien en 1798 había descubierto la vacunación contra la viruela.

Después de la vacunación contra el cólera de los pollos Pasteur retomó el estudio del carbunclo y observó que en un caldo neutro calentado a 45°C las bacterias del carbunclo ya no se reproducían. Así preparó una vacuna capaz de inmunizar a los animales contra el carbunclo. Su famosa comunicación a la Academia sobre la vacuna del carbunclo no fue anterior al 28 de febrero de 1881. Pero todavía quedaban escépticos a los que era necesario convencer. Para ello, algunos criadores prepararon una serie de experiencias en grandísima escala. Tomaron parte en ella centenares de animales, carneros y vacas. El exito superó todas las esperanzas de Pasteur y demostró ya sin duda, el valor preventivo de la vacunación contra el carbunclo. Hubo en toda Francia una gran explosión de entusiasmo; el culto que Pasteur inspiraba a sus colaboradores se convirtió en el sentimiento de todo un pueblo. El 13 de junio de 1881 la Academia de Ciencias proclamó la validez de las investigaciones de Pasteur.

Después de un breve periodo dedicado a investigaciones sobre el cólera en humanos y el envío a Egipto de una misión científica, uno de cuyos miembros, Thuillier, muere víctima de la epidemia, Pasteur dedicó toda su actividad al estudio de la rabia. Los dos primeros perros rabiosos habían sido dados a Pasteur, en diciembre de 1880, por Bourrel, un viejo veterinario militar. Abordó la enfermedad sin saber que ésta era producida por un virus, sin conocer y sin poder cultivar el microbio y sin poseer siquiera un método seguro de inoculación. En una

primera serie de experimentos, Pasteur extraía con los mayores cuidados un pequeño fragmento del cerebro de un perro muerto de rabia. Después de triturar este fragmento con agua esterilizada, inyectaba ésta bajo la piel de un perro sano. La mayor parte de los perros así tratados morían de rabia en un período de tiempo variable. Pasteur demostró así que la sede del virus no era sólo la saliva sino también el cerebro. Fue entonces cuando Pasteur tuvo la idea de inocular el virus de la rabia directamente en el cerebro de un perro; el perro se puso rabioso a los 14 días; se había encontrado el método de cultivar el virus. El problema era entoces elaborar una vacuna. Pasteur encontró que la médula desecada de un conejo muerto de rabia, perdía su virulencia a medida que pasaba el tiempo y ésta desaparecía totalmente a los 14 días. Pasteur entonces la inoculó bajo la piel de un perro; al día siguiente le inoculó un fragmento de médula que había estado en exposición por 13 días, luego médula de 12 días y así sucesivamente, un día tras otro, hasta que le inoculó médula fresca, Pasteur vio con asombro que el perro seguía indemne. En 15 días adquirió la inmunidad total. Fue un triunfo para Pasteur y para la ciencia francesa. El 6 de junio de 1885 Pasteur vio llegar a su laboratorio a un niño alsaciano de 9 años, Joseph Meister, que días antes había recibido 14 mordeduras de un perro rabioso. Meister fue sometido a las inoculaciones durante 12 días; pasó varias noches en medio de

crueles sufrimientos, pero la curación era definitiva. El 27 de julio, completamente curado, Joseph Meister retomó el camino de su villa. A partir de ese momento los enfermos afluyeron al laboratorio de Pasteur; hasta octubre de 1886, a un año de la curación del pequeño Meister, Pasteur pudo anunciar que sobre 1,726 franceses mordidos y sometidos a su tratamiento sólo había registrado tres fracasos.

La salud de Pasteur estaba seriamente afectada por el exceso de trabajo, el 1º de noviembre de 1894 sufrió un violento ataque de uricemia. Se organizó una guardia permanente en torno a su lecho: en ella se sucedían familiares y colaboradores. El 1º de enero de 1895 pudo recibir a todos sus colaboradores; hasta tuvo la alegría de poder ver a su amigo Alejandro Dumas. A fines de abril se sentía nuevamente bien y visitó su laboratorio, donde Roux le hizo ver en el microscopio el bacilo de la difteria y de la peste. El 13 de junio Pasteur descendió por última vez las escaleras de su Instituto. El 27 de septiembre, mientras se le daba una taza de leche dijo con tono desanimado "no doy más", y permaneció inmóvil por 24 horas. El sábado 28 de septiembre de 1895, a las 4:40 de la tarde murió Pasteur.

> Edmundo Chávez Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez"

El propósito de esta nota consiste en invitar a los autores que mandan sus contribuciones al 13EB a programa para edición de textos WRITE, que el programa para edición de textos WRITE, puede consoles en muestras instrucciones aprenderes en manejar rápidamente y como muchas apircaciones de WIMDOWS es defácil manejo.

Recomendamos su uso principalmente por dos rasones; la primera es porque se trata de un programa al wRITE será relativamente fácil, ya que sigue tos que muchos usuarios tienen acceso ya que forma el los paquetes incluidos en el sistema WINDOWS, Para usuarios con poca experiencia en invitar a los paquetes incluidos en el sistema WINDOWS, Para usuarios con poca experiencia en invitar a los paquetes incluidos en el sistema WINDOWS, Para usuarios con poca experiencia en invitar a los paquetes incluidos en el sistema windows.

LA TERMODINAMICA Y LA CINETICA EN EL ESTUDIO DE LA ESTRUCTURA DE LAS PROTEINAS

En años recientes algunas de las herramientas más poderosas en el estudio de la química estructural como la cristalografía, la resonancia magnética, la cinética y la termodinámica han encontrado aplicaciones en el estudio de la estructura de las proteínas. Estas técnicas en colaboración con la biología molecular y la capacidad de cambiar residuos específicos por mutagénesis dirigida han hecho posible grandes avances en esta área. Una aproximación interesante al estudio de la estructura proteica consiste en estudiar la cinética y la termodinámica del plegamiento de las proteínas, un proceso que ocurre de manera espontánea y que a pesar de la infinidad de posibles conformaciones in vivo llega siempre a la estructura nativa de la proteína. El análisis cinético y termodinámico de este proceso y la participación del agua en este fenómeno constituye el tema central del trabajo presentado en este número por Daniel Alejandro Fernández Velazco quien se ha formado dentro del grupo de Armando Gómez Puyou del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México. Junto a este grupo están los de química estructural de Manuel Soriano y Eduardo Horjales del Instituto de Química; Miguel Costas de la facultad de Química con estudios de hidrofobicidad y los de Andrés Hernández y Arturo Rojo de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa que también estudian el plegamiento de proteínas. Queremos destacar este tipo de contribuciones al BEB no sólo por su calidad académica sino principalmente por tratarse de un trabajo escrito por un candidato al doctorado que ha sido formado en nuestro país en un área de frontera en la que grupos nacionales están desarrollando nuevas aplicaciones y métodos. En otras áreas de la bioquímica y ciencias afines existen personas trabajando en problemas igualmente novedosos, pero de los que hemos recibido contribuciones aisladas. Pensamos que con este trabajo se puede abrir una nueva etapa en el BEB en la que estos investigadores encuentren un espacio para divulgar sus resultados. Esperamos que en un futuro próximo podamos contar con más contribuciones de este tipo.

Alejandro Zentella Dehesa Departamento de Bioenergética, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México Apartado Postal 70-243, México 04510, D F

USO DEL EDITOR DE TEXTOS WRITE UNA BREVE SINOPSIS PARA LOS AUTORES DE TRABAJOS QUE SERAN ENVIADOS AL BEB

El propósito de esta nota consiste en invitar a los autores que mandan sus contribuciones al BEB a utilizar el programa para edición de textos WRITE, cuyo uso recomendamos en nuestras instrucciones para los colaboradores. El programa WRITE puede aprenderse a manejar rápidamente y como muchas otras aplicaciones de WINDOWS es de fácil manejo. Recomendamos su uso principalmente por dos razones: la primera es porque se trata de un programa al que muchos usuarios tienen acceso ya que forma parte de los paquetes incluidos en el sistema WINDOWS de MICROSOFT, desafortunadamen-

te pocos usuarios saben que tienen acceso a este programa. La segunda es que los archivos que vienen en este formato pueden ser convertidos sin errores al programa de edición que utiliza nuestra imprenta al momento de ser enviados para su impresión definitiva.

Para los usuarios con experiencia en las aplicaciones dentro del sistema WINDOWS, el uso del WRITE será relativamente fácil ya que sigue los mismos principios generales que rigen en todo el sistema WINDOWS. Para usuarios con poca expe-

riencia en el sistema WINDOWS en esta nota se presentan los principios generales de operación del programa con el propósito de dar una orientación de su uso sin que se pretenda hacer una descripción completa de cómo utilizarlo. Con la información que aquí se presenta es posible que un usuario pueda continuar explorando el resto de los comandos y aplicaciones del programa.

Cabe aclarar que la siguiente descripción fue hecha utilizando la versión en inglés del programa MICROSOFT WINDOWS 3 aparecida en 1991 y es posible que versiones nuevas y versiones en español presenten variaciones o términos que no se describen en esta nota. Ya que todos los términos que aparecen en la pantalla del programa utilizado como base están en inglés se ha puesto entre paréntesis su traducción en español que no necesariamente corresponde al término que aparecerá en la pantalla de los programas en español. Cuando se ha descrito una serie de comandos a teclear o símbolos que aparecen en la pantalla éstos se han puesto en negritas.

¿DONDE ESTA EL EDITOR DE TEXTOS WRITE?

El editor de textos WRITE forma parte del paquete de accesorios incluido en todos los sistemas denominados WINDOWS. Esto quiere decir que cualquier usuario que tenga acceso a una máquina con el sistema WINDOWS tiene también acceso al programa WRITE. Dentro del sistema WINDOWS existe un archivo denominado Accessories (Accesorios) en el que hay varios programas y aplicaciones, dentro de este archivo se encuentra el programa de edición de textos denominado WRITE.

¿QUE PUEDE UNO HACER CON EL EDITOR WRITE?

Como ya hemos mencionado este programa de edición de textos es de manejo sencillo y comparable a muchos otros editores de textos y permite:

- Editar textos copiando y borrando secciones del texto.
- b) Buscar palabras o símbolos dentro de un texto.
- c) Usar distintos tipos y tamaños de letra.
- d) Usar símbolos como letras griegas y símbolos matemáticos.
- e) Subrayar, usar negritas o cursivas.
- f) Usar superíndices y subíndices.
- g) Justificar los márgenes o centrar, así como indentar.

- h) Modificar el espacio entre los renglones.
- i) Adicionar encabezados y pies de página.
- j) Importar imágenes y figuras del programa PAINTBRUSH.

¿QUE ES LO QUE WRITE NO PUEDE HACER? El programa de edición WRITE es muy flexible pero tiene limitaciones cuando se le compara con los editores como WORD o WORDPERFECT, en particular cuando se trata de importar textos que inicialmente se escribieron en otros programas de edición:

- a) No puede importarse fácilmente un texto que fue escrito en otro editor.
- No hay un programa de corrección de ortografía.
- Tiene una compatibilidad limitada con programas de dibujo o de generación de gráficas como EXCEL o HARVARD GRAPHICS.

En particular para nuestros autores es importante saber que no es fácil importar textos escritos con otros programas lo que significa que el documento debe ser escrito desde el principio en WRITE.

¿COMO ENTRAR AL PROGRAMA WRITE? Desde el programa operativo DOS (normalmente reconocido porque en la pantalla aparece C:\>) puede activarse el sistema WINDOWS tecleando WIN seguido de la tecla enter. En su pantalla aparecerá una imagen con diferentes ventanas. Usando el "ratón" o "mouse" mueva la flecha que aparece en lugar del cursor y señale la ventana intitulada Accessories (Accesorios) oprimiendo una vez la tecla izquierda del "ratón". Esto hará que esta ventana se active; puede reconocerse que la ventana ha sido activada por la aparición de un símbolo negativo en el extremo superior izquierdo de la ventana de Accessories (Accesorios). Para entrar al programa WRITE es necesario poner el cursor sobre la base del símbolo del programa WRITE (identificado por una pluma y la letra A). Manteniendo el cursor sobre la base del símbolo pulsar con rapidez dos veces la tecla izquierda del "ratón". Con estas acciones aparecerá la primera hoja de un nuevo archivo del programa WRITE. En la parte superior de la pantalla aparecerá el nombre del archivo que está abierto y debajo de él la barra de control. En el margen derecho una barra con un cuadro que al ser tocado por el cursor y mantener oprimida la tecla izquierda del "ratón" le permitirá moverse con rapidez del principio al final del archivo. En el margen inferior hay una barra similar para moverse del extremo derecho al izquierdo del archivo. En el extremo inferior izquierdo un recuadro indica la página en la que se encuentra. Los finales de página se indican con una doble cabeza de flecha en el margen izquierdo.

¿COMO SE MANEJA ESTE PROGRAMA?

Al igual que todas las aplicaciones compatibles con el sistema WINDOWS, el programa WRITE presenta una serie de comandos agrupados en listas o menús que aparecen en la parte superior de la pantalla en lo que se denomina la barra de control. Tanto para abrir los menús como para seleccionar cualquiera de las opciones que aparecen en los menús el procedimiento es el mismo: se señala con el cursor moviéndolo con el "ratón" y se oprime la tecla izquierda del "ratón" una sola vez.

Los encabezados de los menús que aparecen en la barra de control y el tipo de comandos que contienen son los siguientes:

ENCABEZADO TIPO DE COMANDOS

File (Archivo)	abrir, almacenar archivos, impresión y salida del pro-
Edit (Edición)	grama editar textos e insertar fi- guras
Search (Búsqueda)	encontrar textos y cam- biarlos
Character (Caracteres)	tipo y tamaño de letra o símbolo, subrayado, ne- gritas, itálicas, etc.
Paragraph (Párrafo)	justificación, distancia en- tre renglones, indentar tex- tos
Document (Documento)	encabezados, pies de figura, tabulador, formato de la hoja
Help (Ayuda)	información de apoyo

Por medio del "ratón" puede moverse el cursor para señalar alguno de estos encabezados. Cuando el cursor cambia a una flecha es posible abrir este menú oprimiendo la tecla izquierda del "ratón", con esta acción el menú queda encendido y aparece como una pequeña ventana. Cualquiera de las opciones que aparecen en el menú puede ser activada al señalarla con la flecha y oprimiendo nuevamente la tecla izquierda del "ratón".

Por ejemplo, el menú que contiene los comandos utilizados para manejar archivos se llama File (Archivo) y al encenderlo aparece el siguiente listado:

COMANDO	APLICACION
New (Nuevo)	crear un nuevo archivo
Open (Abrir)	abrir un archivo creado con anterioridad
Save (Almacenar)	almacenar el archivo con el que se trabaja con un nombre previo
Save As	almacenar el archivo con
(Almacenar Como)	el que se trabaja con un nuevo nombre
Print (Imprimir)	imprimir el archivo con el que se trabaja
Print Setup	configuración con la que
(Configuración)	imprime el archivo
Repaginate (Repaginar)	volver a paginar
Exit (Salir)	abandonar el programa
anisan na otasun	WRITE al final de la se-
	sión de trabajo

En ocasiones la selección de uno de los comandos del primer menú hará que se encienda una segunda ventana en la que deberá de seleccionarse una opción por medio de la tecla izquierda del "ratón". Un ejemplo de este tipo de ventanas es la que aparece cuando se selecciona el comando de impresión Print (Impresión). En esta ventana hay que hacer tres selecciones: a) seleccionar el número de copias que se desea imprimir, b) si se desea imprimir todo el documento o una porción de él, c) si se desea una impresión de calidad o un borrador. Si no se hace ninguna selección, el programa ofrece la siguiente combinación: una copia de todo el documento con una impresión de alta calidad. Si las opciones son las correctas se señala la opción OK (Aceptar) con el cursor. En caso de que no se desee imprimir se señala la opción Cancel (cancelar).

¿COMO ALMACENAR UN ARCHIVO?

Para almacenar un archivo al que aún no se le ha dado un nombre es necesario utilizar el comando Save As (Almacenar Como) localizado dentro del menú File (Archivo). Al activar este comando aparece una segunda ventana con varios recuadros. Por ejemplo, para guardar el archivo en un disco flexible de 5 1/4 pulgadas es necesario seleccionar el disco [-a-] o [-b-] que aparece en el recuadro inferior izquierdo oprimiendo la tecla izquierda del ratón. En la parte

superior de esta ventana aparece el término Filename seguido de un recuadro. Al seleccionar este recuadro aparece dentro de él un cursor como una barra vertical que parpadea permitiendo teclear el nombre que se quiere dar a este archivo. Para almacenar el archivo se mueve el cursor sobre la opción OK (Aceptar) y se oprime la tecla izquierda del "ratón", con esta acción el nombre del archivo ha sido fijado y el archivo se almacena en el disco indicado.

¿COMO UTILIZAR UN ARCHIVO CREADO CON ANTERIORIDAD?

El uso de un archivo creado previamente requiere del comando Open (Abrir) que se encuentra dentro del menú File (Archivo). Al hacer esta selección aparece una ventana con varios recuadros. Es necesario seleccionar el disco dentro del cual se encuentra el archivo con el que se desea trabajar. En el recuadro inferior izquierdo se selecciona el disco [-a-], [-b-] o [-c-], con lo que en el recuadro de la derecha aparecen los archivos compatibles con el programa WRITE. Cabe mencionar que todos los archivos creados por WRITE tienen al final la extensión .WRI. Al mover el cursor sobre el archivo que se desea abrir y oprimir con rapidez dos veces la tecla izquierda del "ratón" aparece en la pantalla la primera hoja del archivo seleccionado; esta copia puede ser leída, modificada o puede imprimirse.

¿QUE HACER CUANDO SE COMETE UN ERROR?

Un error al borrar, copiar o mover un texto puede ser revocado utilizando el comando: Undo Typing (Enmendar) localizado dentro del menú de edición Edit (Editar).

En ocasiones por accidente puede abrirse una ventana que solicita información como ocurre en la ventana de impresión. Si una de estas ventanas se abre por error o se desea posponer el uso de esta aplicación mueva el cursor y la posición de Cancel (Cancelar), con esto se revocará el uso de este comando.

Otro tipo de ventana es la que se abre cuando se solicita información con Help (Ayuda). Para salir de estas ventanas es necesario mover el cursor al signo negativo localizado en el extremo superior izquierdo de la ventana que se desea cerrar (no confundir con el signo negativo que aparece en el extremo superior izquierdo de la pantalla). Al oprimir la tecla izquierda del "ratón" se abre un menú del cual debe

seleccionarse el comando Close (Salir). Con esta acción se regresará a la página del texto en la que se encontraba el programa antes de activar esta ventana.

OTRAS FUENTES DE INFORMACION

La información adicional se encuentra en el manual que acompaña a todos los programas de WINDOWS. En particular se recomienda el uso del manual de referencia de MICROSOFT WINDOWS denominado Quick Reference en el que dentro de la sección referente a la aplicación WRITE da una descripción más detallada de la manera de operar este programa.

Una fuente alternativa de información la da el programa mismo dentro del menú de Help (Ayuda). Al abrir este menú aparecerán varias opciones de información: un índice general de ayuda, información sobre el teclado o sobre los procedimientos e incluso sobre cómo utilizar el comando de Help (Ayuda).

Alejandro Zentella Dehesa Departamento de Bioenergética, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México Apartado Postal 70-243, México, D F

A LOS LECTORES DEL BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA

DONATIVO ANUAL 1995

El BEB entra en su décimo cuarto año de publicación y debido a las condiciones económicas imperantes en México, nos permitimos solicitarles de la manera más atenta, el envío de un donativo extracuotas de N\$ 100.00 (Cien nuevos pesos) o bien \$ 20.00 US dólares, que hará posible continuar con la elaboración y distribución del volumen XIV de nuestro Boletín.

El donativo, puede hacerse mediante un depósito bancario a la cuenta número 1153813-9 de Bancomer, o de un giro bancario a nombre de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A C.

En espera de su comprensión y colaboración aprovechamos para enviarles un cordial saludo.

A t e n t a m e n t e El Comité Editorial

AVISOS

TERCERA SEMANA DE EDUCACION BIOQUIMICA



IV CONGRESO

ULTIMO AVISO

Como se les comunicó en el BEB Vol 14, Núm 1, el IV Congreso de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A C, correspondiente al presente año, se realizará en agosto próximo en San Luis Potosí.

Nos permitimos reproducir la Convocatoria publicada en nuestro número anterior instándole a participar, si cubre con el requisito de ser profesor de bioquímica o ciencias afines en algún centro de enseñanza superior.

La inauguración se realizará en el auditorio de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (Av. V. Carranza 2405), a las 17:00 horas del domingo 13 de agosto.

Yolanda Saldaña Balmori Presidente

Ricardo Santiago Díaz Secretario - Tesorero

ASOCIACION MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUIMICA, A C

IV CONGRESO

Por este conducto se invita a todos los profesores de bioquímica o ciencias afines a presentar el producto de su trabajo académico en el área docente, en el IV CONGRESO DE LA ASOCIACION MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUIMICA A C,

que se realizará los días 13, 14 y 15 de agosto de 1995, en la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, durante la TERCERA SEMANA DE EDUCACION BIOQUIMICA.

El tema central del congreso es EXPERIENCIA DOCENTE el cual se ha dividido en las siguientes áreas:

- 1. Diseño curricular: planes y programas de estudio.
- 2. Proceso enseñanza-aprendizaje.
- 3. Técnicas de enseñanza.
- 4. Comparación de la enseñanza en diferentes carreras.
- 5. Prácticas de laboratorio.
- 6. Técnicas de evaluación.
- 7. Perspectivas.
- 8. Enseñanza extracurricular.
- 9. Otros.

Para la presentación del resumen se le pide lo realice dentro del recuadro que se anexa, sin rebasar los márgenes, utilizando máquina eléctrica o computadora con letra tipo Courier 12. El título deberá ir en mayúsculas en el rectángulo superior; en el siguiente deberá ir el o los nombres de los autores, institución, ciudad y país en mayúsculas y minúsculas y en el rectángulo inferior el resumen. Le pedimos cuidar su presentación y ortografía, pues de lo contrario no se podrá incluir en las memorias que se elaborarán en ocasión del congreso. El original de su trabajo no deberá tener borrones ni tachaduras y se enviará sin doblar junto con tres copias.

No se aceptan envíos por fax.

Su correspondencia deberá dirigirse a:

Ricardo Santiago Díaz. Secretario-Tesorero Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A C Apartado Postal 70-281 Coyoacán, 04510, México, D F.

o a:

Yolanda Saldaña Balmori

Presidenta

Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A C

Apartado Postal 70-281

Coyoacán, 04510, México, D F. o al Departamento de Bioquímica Facultad de Medicina, UNAM, con teléfono 623-2168.

La fecha límite para la entrega de los resúmenes será el 15 de junio del presente.

Las cuotas de inscripción al congreso son de N\$250.00, para los socios e incluye la renovación de su membresía por el año de 1995, su participación en el congreso y la suscripción del Boletín de Educación Bioquímica por el año, y para los no socios es de N\$300.00 e incluye su participación en el congreso y la suscripción del Boletín de Educación Bioquímica por el año de 1995. Su pago deberá realizarse con un depósito en la cuenta No. 1153813-9 de Bancomer y enviarnos al fax número 616-2419 (si su depósito es dirigido en la Ciudad de México, o bien incluya al inicio el número 525 si su envío es desde el interior del país), o junto con su resumen una copia de este documento y conservar su comprobante para posibles futuras aclaraciones.

Para la mejor organización del congreso, le pedimos que cuando envíe su resumen nos proporcione los siguientes datos:

XXII TALLER DE ACTUALIZACION BIOQUIMICA

A los profesores de bioquímica de las universidades del país.

El Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM, invita a todos los profesores de bioquímica a participar en el XXII Taller de Actualización Bioquímica, que se realizará del 13 al 18 de agosto de 1995, en la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, en San Luis Potosí, dentro de la "3a. SEMANA DE LA EDUCACION BIOQUIMICA".

Para mayores informes dirigirse a los miembros del Comité Organizador: Dres. Federico Martínez M, y Sara Morales López, al Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM. FAX 616-24-19 y al Apdo. Postal 70-159, C.P. 04510 y en San Luis Potosí con la Dra Beatriz M Ramírez A, teléfono y fax 91(48)17-69-76.

LISTA DE HOTELES PARA LA 3A SEMANA DE EDUCACION BIOQUIMICA A REALIZARSE EN LA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI, DEL 13 AL 18 DE AGOSTO DE 1995.

HOTEL Y DIRECCION	ejandro Zenteña 2-56-03 [6-24-19	SENCILLA	DOBLE	TRIPLE
Real Plaza. Av V Carranza 890	Fax (48) 14-66-39 Tel (48) 14-60-55 Tel (48) 14-69-89	162.00	189.00	
Panorama. Av V Carranza 315	Tel (48) 12-17-77 Fax (48) 12-45-91 Sin costo 91800- 48001	180.00	210.00	240.00
Concordia. Manuel J Othón y Morelos	Fax (48) 12-69-79 Tel (48) 12-06-66 Tel (48) 12-07-05	125.00*	70.00*	50.00*
Tena. Av Dr Manuel Nava 200	Tel (48) 13-12-07 Fax (48) 11-14-15	Brad Depte Facul	200.00	220.00

Los precios son por habitación y pueden sufrir modificaciones, favor de verificarlos antes de reservar.

*Los precios son por persona.

IX CONGRESO DE BIOENERGETICA Y BIOMEMBRANAS DE LA SOCIEDAD MEXICANA DE BIOQUIMICA

a realizarse del 12 al 16 de noviembre de 1995 en el Centro Vacacional Metepec del IMSS en Puebla

Se aceptará un máximo de dos contribuciones orales por cada miembro numerario; contribuciones adicionales serán consideradas para ser presentadas en posters. En esta ocasión, cada sesión terminará con una mesa redonda integrada por comentaristas asignados para fomentar el espíritu crítico y de discusión.

Las contribuciones serán agrupadas dentro de los siguientes temas generales:

- 1. ATPasas y acoplamiento energético
- 2. Transporte de electrones
- 3. Transporte a través de membranas
- 4. Dinámica de lípidos de membrana
- 5. Transducción a través de membrana
- 6. Fotosistemas

Los resúmenes serán recibidos a partir del día 3 de julio, y la fecha límite será el 25 de agosto. Las instrucciones y formatos podrán ser recogidos en la Dirección del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM con la Sra Guadalupe Ramírez.

COMITE ORGANIZADOR

Dr Víctor CalderónTel 754-02-00 ext 52-25
Fax 754-68-04

Dr Alejandro Zentella Tel 622-56-03 Fax 616-24-19 Dra Patricia del Arenal Tel 623-21-69 Fax 622-56-11

LA SOCIEDAD MEXICANA DE BIOLOGIA DEL DESARROLLO A C

invita a su

SEGUNDO CONGRESO NACIONAL

El cual tendrá lugar en el Auditorio del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México, del 12 al 14 de junio de 1995.

Informes:

Dra Graciela Meza Ruiz Depto de Neurociencias Instituto de Fisiología Celular, UNAM

Tel 622-55-85 Fax 622-56-07 **Dra Ma Cristina Márquez Orozco** Depto Embriología

Facultad de Medicina, UNAM

Tel 623-23-53 Fax 583-26-67

Dr Marte Lorenzana Jiménez

Depto Farmacología Facultad de Medicina, LINAM

UNAM Tel 623-21-63 Fax 616-14-89

VII CONGRESO NACIONAL DE BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR DE PLANTAS

Y

PRIMER SIMPOSIUM MEXICO-ESTADOS UNIDOS SOBRE AGROBIOLOGIA, FISIOLOGIA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGIA DE CULTIVOS IMPORTANTES PARA LA AGRICULTURA MEXICANA

Del 5 al 9 de noviembre de 1995 Cocoyoc, Morelos

Organizado por: la Sociedad Mexicana de Bioquímica, el Instituto de Biotecnología, UNAM y la Facultad de Química, UNAM.

PROGRAMA CIENTIFICO: TEMAS DE LOS SIMPOSIA

- Asociaciones Simbióticas y Fijación de Nitrógeno
- Mecanismos Moleculares de Desarrollo
- Respuestas de las Plantas Bajo Estrés
- Transducción de Señales
- Regulación de Procesos Metabólicos
- Respuesta a Patógenos

Informes: Dra Alejandra Covarrubias
Instituto de Biotecnología. UNAM
Apdo Postal 510-3
Cuernavaca, Morelos 62271
Tel (73) 114700 Fax (73) 139988 o (73) 172388
Correo electrónico: crobles @pbr322.ceingebi.unam.mx

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DEL

BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA

El BEB es una revista dedicada a la divulgación de temas interesantes y relevantes en el campo de la Bioquímica y de áreas afines. Está dirigido a profesores y estudiantes, por lo que se sugiere que la presentación de los trabajos se ajuste a sus lectores y sea clara y explícita. Serán bienvenidas las contribuciones en forma de artículos de revisión y otras comunicaciones. Se solicita a los autores se ajusten a los siguientes lineamientos para facilitar la labor editorial:

I. ARTICULOS DE REVISION

- 1) El artículo deberá enviarse en un disco flexible de 5 1/4 pulgadas de 365 KB de capacidad, escrito en el procesador de textos "Word 5" 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).
- 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

- 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 trabaio, etc.
- 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 al corresponsal del BEB en su localidad.

BEB 95 Vol 14 Núm 2 Junio de 1995

CONTENIDO

EDITORIAL	Alejandro Zentella Dehesa
LA SISTEMATIZACION DE LA	Alejandro Zentena Denesa
INFORMACION INFORMACION	A LOS LECTORES DEL BOLETIN DE
Antonia Llorens Cruset3	EDUCACION BIOQUIMICA. DONATIVO
Altonia Liolons Cluset	ANUAL 1995
ARTICULOS	El Comité Editorial43
PLEGAMIENTO DE PROTEINAS	AVISOS
Daniel Alejandro Fernández-Velasco5	
	TERCERA SEMANA DE EDUCACION
INTERACCIONES ENTRE Entamoeba	BIOQUIMICA
histolytica Y EL COMPLEMENTO	IV CONGRESO DE LA ASOCIACION
Laila Gutiérrez Kobeh y Ruy Pérez Montfort 11	MEXICANA DE PROFESORES DE
	BIOQUIMICA, A C44
ENTRE SIMILITUD Y HOMOLOGIA	XXII TALLER DE ACTUALIZACION
Alberto Huberman Wajsman18	BIOQUIMICA47
DE DECEMBER A LINDOWERS DE	IX CONGRESO DE BIOENERGETICA Y
EL DESARROLLO DE LA HIPOTESIS DE	BIOMEMBRANAS DE LA SOCIEDAD
MITCHELL; UN CASO EJEMPLAR Y UN	MEXICANA DE BIOQUIMICA, A C48
ARQUETIPO PARA LA DOCENCIA Antonio Peña Díaz20	MEXICANA DE BIOQUÍMICA, A C40
Antonio Pena Diaz20	II CONGRESO NACIONAL DE LA SOCIEDAD
COMPARACION INMUNOLOGICA Y	MEXICANA DE BIOLOGIA DEL
MOLECULAR ENTRE LOS VIRUS DE	DESARROLLO, A C
INMUNODEFICIENCIA HUMANA	DEDITING DECITION TO THE PROPERTY OF THE PROPE
TIPO 1 Y TIPO 2	VII CONGRESO NACIONAL DE BIOQUIMICA
Nina Valadez González y	Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE PLANTAS
Carmen Soler Claudín	Y PRIMER SIMPOSIUM MEXICO-ESTADOS
Curnon bolor claudii	UNIDOS SOBRE AGROBIOLOGIA, FISIOLOGIA
OTRAS COMUNICACIONES	MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA DE
	CULTIVOS IMPORTANTES PARA LA
MOTOO KIMURA 1924 A 1994	AGRICULTURA MEXICANA49
Jesús Manuel León Cázares v María Teresa	
Elizabeth Flores Rodríguez	INSTRUCCIONES PARA LOS
	COLABORADORES DEL BOLETIN DE
LOUIS PASTEUR 1822 A 1895	EDUCACION BIOQUIMICA50
Edmundo Chávez Cosío36	
LA TERMODINAMICA Y LA CINETICA	
EN EL ESTUDIO DE LA ESTRUCTURA	
DE LAS PROTEINAS	
Alejandro Zentella Dehesa36	