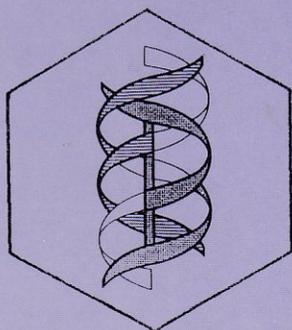


# BEB 96

---

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

### JOSE VICTOR CALDERON SALINAS

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados  
Instituto Politécnico Nacional

### 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

### ALEJANDRO ZENTELLA DEHESA

Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México

## EDITOR EN JEFE

### JESUS MANUEL LEON CAZARES

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

## COORDINADOR DE CORRESPONSALES

### SERGIO SANCHEZ ESQUIVEL

Instituto de Investigaciones Biomédicas  
Universidad Nacional Autónoma de México

## EDITOR ASOCIADO

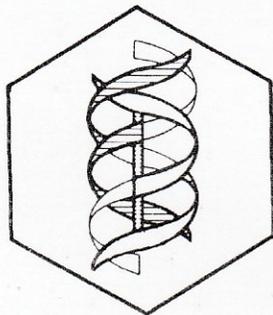
### MA TERESA ELIZABETH FLORES RODRIGUEZ

Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México

## APOYO SECRETARIAL

### ELISA MORA

Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México



Asociación Mexicana de  
Profesores de Bioquímica, AC



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** (Índice 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

## EL QUINTO CONGRESO DE LA ASOCIACION MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUIMICA, A C, CAMBIA DE SEDE

En diciembre del año pasado, el Consejo Directivo de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A C, realizó una evaluación del IV Congreso, cuyos resultados fueron publicados en el editorial del volumen 14, número 4, del BEB. Como resultado de dicho análisis, se formó un comité responsable de la organización del V Congreso, el cual quedó conformado por José Víctor Calderón Salinas, Jesús Manuel León Cázares y Alejandro Zentella Dehesa (BEB volumen 15, número 1).

Cuando el comité asumió la responsabilidad de la organización del Congreso, la sede ya había sido otorgada, durante el IV Congreso, por Yolanda Saldaña Balmori, Presidenta de la Asociación. Como es costumbre, el Congreso se realizaría junto con el Taller de Educación Bioquímica, dentro de la Semana de la Educación Bioquímica, que organiza el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

La sede fue solicitada por la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) a través de Juan

Antonio Rodríguez Arzave, Subdirector Administrativo de la Facultad.

En varias ocasiones, los organizadores expresaron su franca preocupación por la organización en la Facultad de Ciencias Biológicas en Monterrey, N L y recibieron manifestaciones de confianza de la Presidencia de la Asociación, así como del responsable en la sede, por lo cual se decidió iniciar la programación de las actividades correspondientes, invitando a los ponentes y publicando la convocatoria del Congreso (BEB volumen 15, número 1); en dicha convocatoria se declaró como sede a la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL. Ya para entonces existía una solicitud oficial firmada por Juan Manuel Adame Rodríguez, Director de la Facultad, que confirmaba como responsable de la organización a Juan Antonio Rodríguez Arzave y se le había remitido una carta oficial, donde se le otorgaba la sede de la Semana de la Educación Bioquímica (Taller y Congreso). Era de suponer que los responsables de la sede tenían por entendido las responsabilidades a las que se habían comprometido y que más tarde fue garantizado por Yolanda Saldaña Balmori y

los organizadores del Taller. Dicha garantía se derivaba de una reunión con el Director de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL, en las instalaciones de la Facultad de Medicina de la UNAM.

Poco después de enviar los requerimientos concretos del Congreso y del Taller, se notificó que el Director de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL, no podía apoyar el total de las actividades a las que, según teníamos entendido, se había comprometido, señaló que sólo se había aceptado la mitad de los requerimientos solicitados y que sus posibilidades estaban limitadas exclusivamente a dichos requerimientos. Como resultado del juego del “yo dije” y “yo no dije”, el Congreso y el Taller cambian de sede.

En el análisis de estos hechos, encontramos opiniones optimistas que dicen: ¡no pasa nada, volvemos a casa! Las versiones más optimistas argumentaron que se vería beneficiada la Semana de Educación Bioquímica; dado que la asistencia sería mayor y los costos menores, ya que la Ciudad de México es más barata y con mayores opciones de hospedaje. Creemos que debemos asumir una actitud optimista para continuar trabajando, pero sin dejar de hacer un análisis objetivo y realista del motivo y la trascendencia del cambio de sede.

El cambio de sede al que nos enfrentamos, no puede ser justificado por causas de fuerza mayor o por un desastre natural; no podemos ni debemos dejar de reconocer que se debe a una mala organización, lo cual para mucha gente es un desastre natural, tan natural y frecuente que nunca le damos la importancia que merece.

¿Cómo podemos estar organizando semanas de la educación o congresos con motivo del proceso enseñanza-aprendizaje, cuando la organización y la planeación son deficientes? ¿Cómo podríamos explicarnos que alguien no quiso invertir

\$20,000.00 pesos en una reunión académica nacional? Sin embargo, no tenemos una carta donde se establece el compromiso. Y si no se cuenta con esa carta, es porque no existe; y si no existe, es porque la planeación no justificó la necesidad de exigir por escrito el compromiso, ante una plática que parecía ser entre caballeros o mejor dicho entre damas y caballeros. Lo cual pensamos que era suficiente y que ahora sabemos que no lo fue.

Reduciríamos los daños al decir que es mejor estar en la Ciudad de México, sin considerar a una o a varias personas que se tomaron la molestia de responder a las convocatorias y planear sus actividades. Y qué decir de los invitados, que ya se veían en el Cerro de la Silla y ahora se tendrán que ubicar en el Centro Histórico de la Ciudad de México. ¡Claro que aceptarán! y hasta dirán que es mejor, porque así no se alejarán de su laboratorio; pero y ¿qué pensarán de la organización? ¿Qué hay de la descentralización de la educación? ¿Qué de los pocos o muchos profesores a los cuales se les podría facilitar ir a Monterrey? y ¿Qué de los profesores de Monterrey? los cuales pudieron tener una oportunidad de convivir con profesores de otros sitios; y no es que en Monterrey no hagan Talleres y Congresos, pero ¿cuántos tratan de actualizar a sus profesores en áreas básicas y con estricta orientación académica?

Finalmente, los organizadores se verán beneficiados, porque aquí tienen secretarías, laboratorios, aulas, bibliotecas, etc; pero, si todos le encontramos ventajas a estar en casa ¿por qué tratamos de dar la sede a otra Ciudad?

Seguramente que a nadie le gusta fallar, pero lamentamos decirles que el Congreso cambia de sede y esto representa fallas en la organización, sea cual sea la causa.

*El Consejo Directivo*

# RECEPTORES DE INTERLEUCINA-2 (IL-2) Y SU MECANISMO DE TRANSDUCCION INTRACELULAR

Rocío Alcántara Hernández. Departamento de Bioenergética, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México. Apartado Postal 70-243, México 04510, D F, México.

Recibido: Septiembre 5 de 1995. Aceptado: Marzo 12 de 1996.  
Bol Educ Bioq (México) 15(2):57-61

## RESUMEN

La interleucina-2 (IL-2) es una citocina pleiotrópica que tiene un papel crucial en la proliferación y diferenciación de células T, células B, células T citotóxicas, células de glioma y células del linaje de monocitos, al unirse específicamente a receptores membranales (Rs-IL2) que no presentan actividad intrínseca de cinasa de residuos de tirosina como en el caso de los receptores para factores de crecimiento. La activación del receptor con IL-2 induce la fosforilación rápida en residuos de tirosina de proteínas intracelulares, así como la asociación del receptor con proteínas de las familias Src, Syk/ZAP-70, JAKS y con la PI-3-cinasa, de tal forma que estos receptores pueden acoplarse a distintas vías de transducción.

**PALABRAS CLAVE:** Receptor, interleucina-2 (IL-2), mecanismo de transducción.

## ABSTRACT

The Interleukin-2 (IL-2) is a pleiotropic cytokine that plays a crucial role in proliferation and differentiation of T cells, B cells, natural cytotoxic cells, glioma cells and cells of the monocyte lineage after specifically interacting with receptors on the cell surface (Rs-IL2). Despite the lack of intrinsic tyrosine kinase activity, IL-2 stimulation induces tyrosine phosphorylation of intracellular proteins as well as the association with protein families such as the Src, Syk/ZAP-70 and JAKS, and the PI-3-Kinase. It is believed Rs-IL2 might activate different transduction pathways.

**KEY WORDS:** Receptor, interleukin-2 (IL-2), transduction mechanism.

## INTRODUCCION

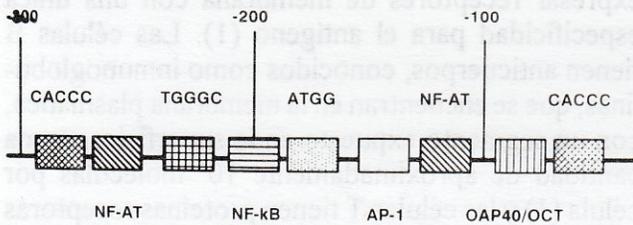
La respuesta inmune depende de una población celular que es capaz colectivamente del procesamiento del antígeno, de su reconocimiento, de la comunicación intercelular, de la diferenciación dirigida por el antígeno y de la expresión de funciones efectoras. Participan en la respuesta inmune principalmente dos tipos de células: los linfocitos B y los linfocitos T, cada linfocito está predeterminado para expresar receptores de membrana con una única especificidad para el antígeno (1). Las células B tienen anticuerpos, conocidos como inmunoglobulinas, que se encuentran en la membrana plasmática, con un segmento expuesto en la superficie, en una cantidad de aproximadamente  $10^5$  moléculas por célula (1) y las células T tienen proteínas receptoras también en la membrana plasmática llamadas alfa-beta y gamma-delta (2). Un avance importante en la década pasada dentro del campo de la inmunología, fue la demostración de que las diferentes células que intervienen en la comunicación inmunológica lo hacen no sólo por interacción célula-célula, sino también actúan debido a la respuesta producida por proteínas similares a hormonas conocidas como interleucinas, linfocinas o citocinas (3). De las 15 interleucinas reportadas, la interleucina-2 (IL-2) es la que, hasta la fecha, mejor se conoce en su estructura y su función, así como su receptor específico, lo que ha permitido un gran avance en el esclarecimiento de su mecanismo de transducción intracelular.

## LIGANDO PARA LOS RECEPTORES A IL-2

La IL-2 es una citocina muy importante que actúa tanto en linfocitos B como en linfocitos T, aunque su síntesis se restringe a los linfocitos TH (auxiliares), cuando son estimulados en respuesta al antígeno y de manera transitoria. Los estudios recientes de Garrity y colaboradores (4) profundizan en los

mecanismos y elementos que las células requieren para inducir la transcripción del gen de la IL-2. Se sabe que participan factores nucleares, tales como el complejo AP-1 (formado por los protooncogenes *c-fos* y *c-jun*), NF-AT (elemento de reconocimiento que se une a un factor complejo ensamblado en el núcleo) y NF- $\kappa$ B (factor de transcripción nuclear), los cuales son capaces de unirse a la región promotora/amplificadora en el DNA complementario del gen de la IL-2 e inducir su transcripción. En algunos casos estos factores nucleares actúan de manera competitiva en la inducción de la transcripción, además del octámero OAP40/OCT que funciona como un sitio activador dependiente del estímulo y es específico de las células T (Fig 1), y por otra parte existen elementos inhibitorios de la transcripción del gen de la IL-2. También existen procesos dependientes de calcio que regulan la mitogénesis a nivel transcripcional del gen de la IL-2.

### REGION REGULADORA DE IL-2



**Figura 1.** Resumen de las interacciones DNA-proteína que regulan la transcripción del gen de la IL-2 en linfocitos T(4), detectadas *in vivo* por análisis de "footprinting" (técnica de la huella).

De manera general, la IL-2 se considera un regulador pleiotrópico que promueve el crecimiento celular y la activación de los linfocitos, sin embargo, tiene efectos biológicos particulares. En los linfocitos TC (citotóxicos), la IL-2 en conjunto con otras citocinas y factores de crecimiento, inducen la lisis de monocitos y de células tumorales resistentes a células T citotóxicas infectadas con *Mycobacterium avium*, un patógeno oportunista intracelular que comúnmente se ha observado en pacientes con SIDA (5).

### RECEPTORES DE INTERLEUCINA 2 (IL-2)

Existen tres formas del receptor de la IL-2 según su afinidad por el ligando: uno de baja afinidad (con una constante de disociación de  $10^{-11}$  M), uno de afinidad intermedia ( $10^{-9}$  M) y uno con alta afinidad por el ligando ( $10^{-8}$  M).

Los receptores de IL-2 están constituidos al menos por tres tipos de subunidades llamadas alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ) y gamma ( $\gamma$ ) (3). El complejo  $\alpha\beta$  tiene alta afinidad por la IL-2, mientras que las subunidades por separado  $\beta$  o  $\gamma$  tienen afinidades intermedia y baja, respectivamente (6); la expresión de la subunidad  $\alpha$  es la que regula la alta afinidad del receptor. Recientemente varios grupos han observado que la cadena  $\gamma$  también participa en la generación de formas de alta afinidad de los receptores de IL-4, IL-7, IL-9 e IL-15.

**SUBUNIDAD  $\alpha$ .** La cadena  $\alpha$  del receptor de la IL-2 ( $\alpha$ R-IL2) o antígeno Tac (T cell activation) es una proteína de 55 kDa (3), formada por un total de 251 residuos de aminoácidos; 219 componen el dominio extracelular, el cual tiene dos sitios potenciales de N-glicosilación y múltiples sitios para la unión de carbohidratos. El dominio intermembranal tiene una sola región hidrofóbica de 19 aminoácidos y el dominio intracelular, pequeño, es de sólo 13 aminoácidos que se caracterizan por tener algunos de ellos carga positiva. La subunidad  $\alpha$  se considera un receptor con una región glicosilada y sulfatada (en su estructura tiene puentes disulfuro) con la capacidad de unir a la IL-2 con baja afinidad.

**SUBUNIDAD  $\beta$ .** La cadena  $\beta$  del receptor de la IL-2 ( $\beta$ R-IL2) tiene un peso molecular de 70 kDa, está integrada por 525 residuos de aminoácidos, de los cuales 214 forman el dominio extracelular que contiene cuatro sitios potenciales de N-glicosilación y seis cisteínas entre estos sitios; 25 aminoácidos son el dominio transmembranal (del 215 al 239), el dominio citoplásmico de 286 aminoácidos presenta regiones ricas en prolina (30 de 286) y regiones ricas en serina (30 de 286). Al parecer este último dominio es el responsable de la transducción de la señal extracelular (3), no obstante que no se le ha detectado actividad intrínseca de cinasa o de fosfatasa (6).

**SUBUNIDAD  $\gamma$ .** La cadena  $\gamma$  del receptor de la IL-2 ( $\gamma$ R-IL2) fue clonada hace relativamente poco tiempo, de linfocitos T de la línea celular MOLT $\beta$  (6). Esta proteína tiene un peso molecular de 61 a 71 kDa y está formada por 347 residuos de aminoácidos, el dominio transmembranal tiene 28 aminoácidos y se identifica como una  $\alpha$ -hélice dividida en dos regiones (de las posiciones 163 a 172 y de las

posiciones 179 a 189), entre las que se encuentra una cremallera de leucinas. El dominio extracelular tiene seis sitios posibles de glicosilación y además, cuatro cisteínas que se conservan en los miembros de la familia de los receptores para citocinas, en las posiciones 62, 72, 102 y 115, tiene un aminoácido clave que puede variar, localizado cerca del dominio transmembranal, que corresponde a X en la región Trp-Ser-X-Trp-Ser, conocida como región WS (W=Trp y S=Ser). El dominio citoplásmico de 86 aminoácidos es más corto, en comparación con el de la subunidad  $\beta$ R-IL2.

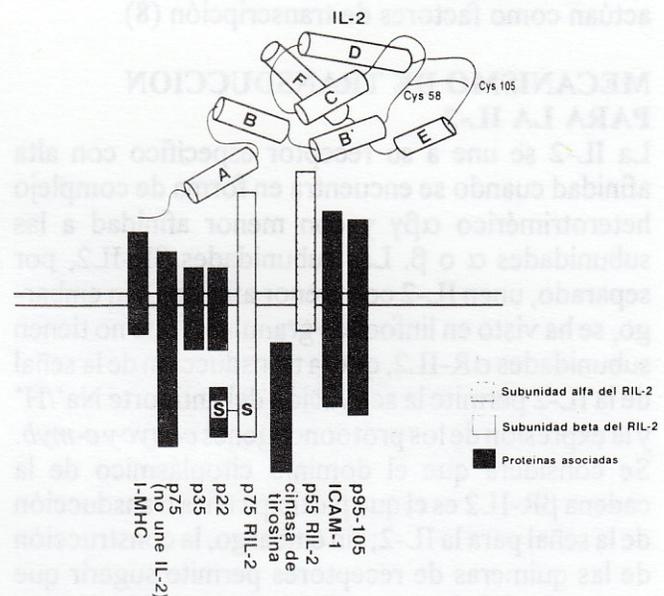
El estudio de la estructura, función y expresión de los R-IL2 ha sido apoyado enormemente por la producción y el empleo de anticuerpos monoclonales anti-Tac, los cuales reconocen epítomos de la subunidad  $\alpha$ R-IL2 (3); así mismo por el empleo de técnicas de biología molecular que han permitido: la formación de quimeras con secuencias de distintos receptores de las interleucinas (7), la purificación y la clonación del DNA complementario de la subunidad  $\alpha$ R-IL2, la clonación de la subunidad  $\gamma$ R-IL2, hecha simultáneamente por tres grupos de investigadores, además de la transfección de los receptores en distintas líneas celulares.

Es importante mencionar que la cadena  $\alpha$ R-IL2 es inducida durante la activación de los linfocitos T y las cadenas  $\beta$ R-IL2 y  $\gamma$ R-IL2 se expresan de forma constitutiva en las células; además, de que la expresión de un tipo de subunidad particular puede ser independiente de la expresión de otro tipo.

### INTERACCION DE LA IL-2 CON SU RECEPTOR

Por mutagénesis dirigida, delección y sustitución de aminoácidos, así como por el empleo de anticuerpos monoclonales producidos para epítomos definidos de la IL-2 humana, se conocen las regiones de la citocina que participan en la unión específica a su receptor (3). De los seis segmentos cortos de  $\alpha$ -hélices que forman la IL-2, la hélice A de 10 aminoácidos (11 a 19) y el aspártico de la posición 20, se requieren para la actividad biológica y la conformación normal de la IL-2 para unirse al receptor. Si se cambia la arginina de la posición 38 en la hélice B por glutamina o alanina, el efecto de la IL-2 en la proliferación celular es mínimo. Del extremo carboxilo, los aminoácidos 131 a 133 y las

cisteínas 58 y 105, que forman un enlace disulfuro, también son importantes para la actividad biológica (Fig 2).



**Figura 2.** Receptor de la IL-2. Está formado por tres tipos de subunidades:  $\alpha$  de 55 kDa,  $\beta$  de 75 kDa y  $\gamma$  de 61 a 71 kDa. Las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  tienen el sitio de reconocimiento al ligando, el dominio intermembranal es hidrofóbico y forma  $\alpha$ -hélices y el dominio citoplásmico (en particular la subunidad  $\beta$ ) que participa en la transducción de la señal (3).

### PROTEINAS ASOCIADAS AL RECEPTOR DE IL-2

Existen evidencias funcionales y estructurales (3) de que hay proteínas asociadas al receptor de IL-2, que cooperan con las cadenas  $\alpha$ R-IL2 y  $\beta$ R-IL2 para unir el ligando. Se han identificado proteínas de 22, de 35 a 40, de 75 (que no une IL-2) y de 95 a 105 kDa que pudieran relacionarse con algunos fenómenos tales como: cambios conformacionales del receptor que alteran su afinidad por el ligando, endocitosis de la IL-2, transducción de la señal, entre otros. Se ha observado que el R-IL2 tiene contacto con moléculas que promueven la adhesión celular en reacciones inmunes inflamatorias, como la proteína ICAM-1 que une al antígeno-1 (LFA-1, CD11a/CD18) y al antígeno CD54 (Fig 2).

Más recientemente, se demostró que estos receptores no sólo forman complejos con proteínas cinasas específicas de residuos de tirosina de la familia Src (Sarcoma de Rous), se ha propuesto una nueva vía para la transmisión de señales reguladoras al núcleo

de la célula para los receptores de citocinas, en la que participa otra familia de proteínas cinasas de residuos de tirosina llamadas JAKS (just another kinases), que tienen como blancos específicos a proteínas que actúan como factores de transcripción (8).

### MECANISMO DE TRANSDUCCION PARA LA IL-2

La IL-2 se une a su receptor específico con alta afinidad cuando se encuentra en forma de complejo heterotrimérico  $\alpha\beta\gamma$  y con menor afinidad a las subunidades  $\alpha$  o  $\beta$ . Las subunidades  $\beta$ R-IL2, por separado, unen IL-2 con menor afinidad, sin embargo, se ha visto en linfocitos granulares que no tienen subunidades  $\alpha$ R-IL2, que la transducción de la señal de la IL-2 permite la activación del antiporte  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  y la expresión de los protooncogenes *c-myc* y *c-myb*. Se considera que el dominio citoplásmico de la cadena  $\beta$ R-IL2 es el que participa en la transducción de la señal para la IL-2; sin embargo, la construcción de las quimeras de receptores permite sugerir que estas subunidades se asocian a otras moléculas por medio del dominio extracelular, el cual puede no ser esencial para la transducción de la señal, pero sí necesario para obtener la respuesta máxima a IL-2. Por otra parte, se cree que la cadena  $\gamma$ R-IL2 también participa en la transducción de la señal, ya que el dominio citoplásmico tiene una secuencia homóloga a la región homóloga del dominio 2 (dominio H2) de las proteínas Src, la cual reconoce residuos fosforilados de algunas fosfoproteínas (6).

A pesar de la falta de actividad intrínseca de cinasa de tirosinas, la clase I de receptores a citocinas, a la que pertenece el receptor de IL-2, induce la fosforilación rápida en tirosina de muchas proteínas. La IL-2, en particular, induce la fosforilación de varias proteínas, entre las que se encuentran pp160, pp110, pp90, pp44 (6) y el propio receptor, la subunidad  $\beta$ R-IL2, para ser más preciso (3). Igualmente, la IL-2 induce la activación de las cinasas específicas de tirosina Lck, Lyn y Fyn (8) e inclusive, parece que existe una asociación física de la subunidad  $\beta$ R-IL2 con estas cinasas. Otras proteínas que se activan por la acción de la IL-2 son: la cinasa de la familia Src, la cinasa Raf-1, la cinasa MAP (proteína activada por mitógenos) y la cinasa que fosforila la posición 3 del anillo del fosfatidilinositol (9).

La IL-2 es capaz de activar proteínas de otras familias, tales como Ras, que forma parte de la fami-

lia de proteínas G pequeñas, éstas intercambian GTP por GDP y tienen un tamaño de 22 kDa aproximadamente. La activación se lleva a cabo por medio de la fosforilación de otras fosfotirosin-cinasas (8).

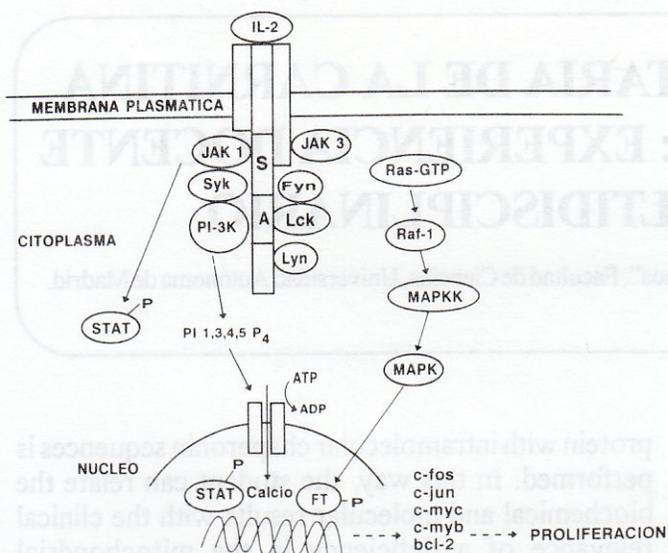
No obstante que la subunidad  $\beta$ R-IL2 es la principal responsable de la transducción de la señal, el R-IL2 requiere también de la subunidad  $\gamma$ R-IL2, esta última le confiere mayor afinidad al complejo  $\alpha\beta$ R-IL2. Es posible que la subunidad  $\gamma$ R-IL2 regule la internación de los R-IL2, ya que se ha observado en células T que la IL-2 ocasiona que los receptores sean internados muy rápido, especialmente cuando son receptores con alta afinidad para el ligando.

Resulta interesante que la familia de proteínas JAKS, que consta de los miembros: JAK1, JAK2, JAK3 y TYK2, parece estar relacionada con muchos miembros de la superfamilia de receptores de citocinas. Algunos factores de crecimiento como el EGF (epidermal growth factor) y las interleucinas 3, 4 y 6, inducen la aparición en el núcleo, de los factores de transcripción citoplásmicos llamados STAT (Signal Transducers and Activators of Transcription) (8) que a su vez, son activados por las proteínas JAKS. Esta vía se ha observado en la transducción de la señal de las interleucinas 2 y 4 (10).

Recientemente se ha propuesto (11) que la proliferación celular es el resultado de la estimulación de varias vías, y que ésta dependerá de la magnitud de la inducción de los genes blanco. Por un lado, la IL-2, al unirse a su receptor induce la expresión de los protooncogenes *c-fos* y *c-jun* por medio de la proteína cinasa Lck; por otro lado, la expresión de *bcl-2*, un protooncogen relacionado con la proliferación o la inhibición de la muerte celular programada (apoptosis), es el resultado de la activación de una vía específica, y la expresión de *c-myc*, otro protooncogen relacionado directamente con el ciclo celular, por medio de las proteínas Syk, de la familia de Syk/ZAP-70 (Fig 3).

### PERSPECTIVAS

La investigación dentro del campo de estudio de los mecanismos de transducción de la señal extracelular, llámese hormona, neurotransmisor o factor de crecimiento, es de suma importancia, pues ha permitido conocer mucho acerca de cómo esta información es procesada y amplificada en la célula hasta convertir-



**Figura 3.** Modelo de las distintas vías de transducción del R-IL2. Esta figura muestra que la estimulación del R-IL2 por el ligando activa varias vías: la activación de Lck o de Ras-Cinasa de la cinasa de MAP (MAPKK)-Cinasa MAP (MAPK) lleva a la expresión de los genes *c-fos* y *c-jun*, la activación de la proteína Syk a la expresión del gen *c-myc*. No se conoce qué proteínas participan en la expresión de *bcl-2*, ni la función de las proteínas JAKS en la inducción de los protooncogenes. Es posible que estas vías cooperen en la proliferación de las células T.

se en un efecto fisiológico. En el caso del mecanismo de transducción del R-IL2 en células hematopoyéticas, participan al menos tres vías de señales (Fig 3) que cooperan en la regulación del ciclo celular; sin embargo, todavía no se conocen con detalle las proteínas que participan; ni la secuencia de activación de proteínas en la cascada de amplificación; tampoco se sabe si las vías convergen. Por otra parte, el mecanismo de muerte celular programada que participa y que está relacionado con el control de la proliferación y de la diferenciación celulares inducidas por la IL-2, no ha sido descrito hasta el momento.

Cabe aclarar que los mecanismos mencionados pueden ser diferentes en otros tipos celulares, y distintos con respecto a otros receptores de citocinas (12). Todavía hay mucho por estudiar.

#### AGRADECIMIENTOS

La autora agradece al Dr Alejandro Zentella Dehesa sus sugerencias, a Patricia Casas y a Maura Cárdenas por su ayuda en la elaboración del manuscrito.

#### REFERENCIAS

- Hood LE, Weissman IL, Wood WB y Wilson JH (1984) Immunology, Editores: Guillen R, Forkner M, Cottrell R, Chafian R, Edden J, Waggeman G y Norris B. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. California, USA, pp 1-15.
- Marrack P y Kappler JW (1993) How the immune system recognizes the body. *Sci Amer* 269(3):49-55.
- Waldmann TA (1991) The interleukin-2 receptor. *J Biol Chem* 266(5):2681-2684.
- Garrity P A, Chen D, Rothenberg E V y Wold B (1994) Interleukin-2 transcription is regulated *in vivo* at the level of coordinated binding of both constitutive and regulated factors. *Mol Cell Biol* 14(3):2159-2169.
- Blanchard DK, McMillen S, Hoffman SL y Pjeu JY (1992) Mycobacterial induction of activated killer cells: possible role of tyrosine kinase activity in interleukin-2 receptor alpha expression. *Inf Immunol* 60(7):2843-2849.
- Takeshita T, Asao H, Ohtani K, Ishi N, Kumari S, Tanaka N, Munakata H, Nakamura M y Sugamura K (1992) Cloning of the gamma chain of the human IL-2 receptor. *Science* 257:379-382.
- Izahura K, Miyajima A y Harada N (1993) The quimeric receptor between interleukin-2 receptor  $\beta$  chain and interleukin-4 receptor transducers interleukin-2 signal. *Biochim Biophys Res Commun* 190(3):992-1000.
- Kitamura T, Ogorochi T y Miyajima A (1994) Multimeric cytokine receptors. *Trends Endocrinol Metab* 5(1):8-14.
- Remillard B, Petriollo R, Maslinski W, Tsudo O M, Strom TB, Cantley L y Varticovski L (1991) Interleukin-2 receptor regulates activation of phosphatidylinositol 3-kinase. *J Biol Chem* 266(26):14167-14170.
- Brunn G J, Falls E L, Allan E N y Abraham R (1995) Protein-tyrosine kinase-dependent activation of STAT transcription factors in interleukin-2 -or interleukin-4-stimulated T lymphocytes. *J Biol Chem* 270(19):11628-11635.
- Miyazaki T, Zhao-Jun L, Kawahara A, Minami Y, Yamada K, Tsujimoto Y, Barsoumian E L, Perlmutter R M y Taniguchi T (1995) Three distinct IL-2 signaling pathways mediated by bcl-2, c-myc, and lck cooperate in hematopoietic cell proliferation. *Cell* 81:223-231.
- Yamamura Y, Kageyama Y, Matuzaki T, Noda M e Iwaka Y (1992) Distinct downstream signaling mechanism between erythropoietin receptor and interleukin-2 receptor. *EMBO J* 11(13):4909-4915.

# LA DEFICIENCIA HEREDITARIA DE LA CARNITINA PALMITOILTRANSFERASA: EXPERIENCIA DOCENTE DE UN ESTUDIO MULTIDISCIPLINARIO

Antonio Liras Martín. Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa", Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Madrid. Cantoblanco 28049, Madrid, España. Fax 397 48 70.

Recibido: Noviembre 29 de 1995. Aceptado: Abril 23 de 1996.  
Bol Educ Bioq (México) 15(2):62-69

## RESUMEN

En este trabajo se describe una clase o sesión teórico-práctica en la que se unen los conceptos bioquímicos, como la valoración de actividades enzimáticas, los métodos de biología molecular, como el análisis del ARN y la relevancia clínica del estudio de una deficiencia molecular de una proteína, en este caso en pacientes con una sintomatología típica de una patología mitocondrial. Se estudian tres tipos de pacientes con deficiencia de carnitina palmitoiltransferasa (CPT), hepática, muscular y mixta, a partir de sus fibroblastos en los que se analiza el mensaje (ARNm) para esta proteína. Por otra parte, se comparan las secuencias de la proteína madura con secuencias que presentan función chaperonina. De esta forma, el estudiante debe ser capaz de relacionar resultados bioquímicos y moleculares con la repercusión clínica de una deficiencia en el metabolismo mitocondrial.

**PALABRAS CLAVE:** Patología mitocondrial, carnitina palmitoiltransferasa, herencia mendeliana recesiva, plegamiento proteico, chaperoninas.

## ABSTRACT

In this work a theoretical and practical session is described, in which biochemical concepts, like enzymatic quantifications, Molecular Biology methods, like RNA analysis and clinical relevance of the study of a molecular deficiency of a protein in this case in patients with a typical mitochondrial pathology are combined. Three types of patients, with hepatic, muscular and intermediate carnitine palmitoyltransferase deficiency, are analyzed from their fibroblasts by RNA analysis for this protein. On the other hand, a comparison of sequences of mature

protein with intramolecular chaperonin sequences is performed. In this way, the student can relate the biochemical and molecular results with the clinical relevance of a deficiency in the mitochondrial metabolism.

**KEY WORDS:** Mitochondrial pathology, carnitine palmitoyltransferase, recessive mendelian inheritance, protein folding, chaperonins.

## INTRODUCCION

La labor docente del profesor de Bioquímica y Biología Molecular, como responsable de una formación integral del estudiante universitario en esta área, debe estar fundamentada en una docencia multidisciplinaria que se base en una experiencia y apoyo científico e investigador, en la que los métodos bioquímicos y moleculares están al servicio de una aplicación clínica.

### Objetivo docente de la sesión teórico-práctica

Esta experiencia docente se debe desarrollar con estudiantes de cursos superiores, que sean capaces de relacionar un gran número de conceptos teóricos previamente aprendidos y dar un enfoque práctico a los distintos conceptos. La sesión tendría como objetivo que el estudiante asimilara el concepto de una deficiencia molecular de una proteína mediante la aplicación de métodos bioquímicos y moleculares, llegando a predecir la posible causa del defecto así como su relación con la sintomatología clínica.

### Objetivo experimental

En este trabajo se describe el estudio de la deficiencia de la CPT en tres pacientes con una clara sintomatología mitocondrial, se definen tres tipos de deficiencia de esta proteína (hepática, muscular y mixta), se mide en fibroblastos el ARNm para esta

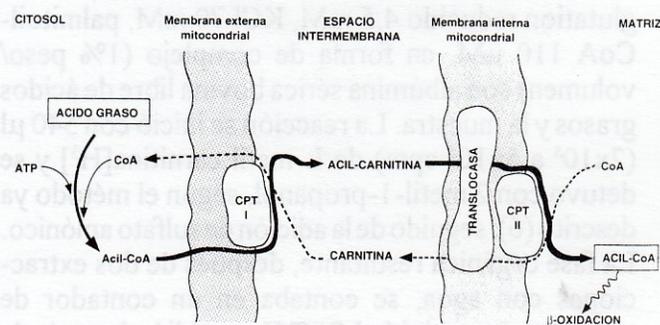
proteína, así como la actividad enzimática de la CPT y mediante la comparación de la secuencia proteica con secuencias con función de chaperonina intramolecular.

#### Marco teórico elemental

La mitocondria es un orgánulo citoplasmático en que tienen lugar aquellos procesos que proveen a la célula de la energía necesaria para llevar a cabo las distintas funciones vitales.

Las patologías mitocondriales (miopatías o encefalomiopatías mitocondriales), constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades debidas a errores metabólicos, que afectan a las distintas rutas energéticas del metabolismo mitocondrial y que se relacionan principalmente con el tejido muscular y nervioso, ya que éstos dependen en gran medida de este metabolismo.

Desde 1962 en que Luft describiera el primer caso de una enfermedad de origen mitocondrial (Enfermedad de Luft, caracterizada por hipermetabolismo severo, sin control respiratorio y pérdida de energía en forma de calor), se han descrito un gran número de alteraciones en el funcionamiento de este orgánulo (1), relacionadas con defectos en la utilización de sustratos, en el ciclo de Krebs, en la cadena respiratoria, en la fosforilación oxidativa o en el transporte.



**Figura 1.** Esquema de la función mitocondrial de la carnitina palmitoiltransferasa en la translocación de los ácidos grasos de cadena larga desde el citosol a la matriz mitocondrial. CPT-I, Carnitina palmitoiltransferasa I de la membrana externa mitocondrial. CPT-II, Carnitina palmitoiltransferasa II de la membrana interna mitocondrial.

En lo que se refiere a defectos en el transporte de determinadas moléculas desde el citosol a la

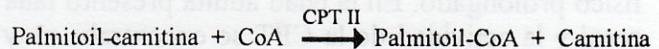
mitocondria, la deficiencia de la CPT ocupa un lugar destacado. Esta proteína permite la translocación de los ácidos grasos de cadena larga, a través de la membrana interna mitocondrial, desde el citosol hasta la matriz donde se lleva a cabo su  $\beta$ -oxidación (Fig 1). Existen dos tipos de CPT, producto de dos genes diferentes: la de tipo I (CPT I), que es una proteína asociada a la membrana externa mitocondrial y que puede separarse por tratamiento con digitonina y la CPT II, una proteína integral de la membrana interna mitocondrial que requiere para su separación del tratamiento con detergentes o butanol (2).

Estas enzimas catalizan las siguientes reacciones:

Reacción directa:



Reacción inversa:



La  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos de cadena larga constituye la fuente principal de energía en el ejercicio prolongado y en condiciones de ayuno. La manifestación clínica más relevante de una deficiencia de la CPT es la ruptura de las células musculares y con ello la aparición de mioglobinuria. Ya que las CPT tipo I y II son enzimas mitocondriales codificadas por dos genes nucleares, la patología se transmite de forma autosómica recesiva y los síntomas y signos clínicos se restringen al músculo esquelético. En ocasiones, se puede presentar disfunción hepática, hipoglucemia recurrente y encefalopatías. Así, de forma clásica, se han descrito dos fenotipos diferentes desde un punto de vista bioquímico y clínico: a) Defecto de CPT I que constituye la forma infantil caracterizada por episodios de hipoglucemia no cetónica, insuficiencia hepática, calambres y coma (3); b) Defecto de CPT II que es la forma más habitual en adultos, que se caracteriza por episodios recurrentes de necrosis muscular con mioglobinuria paroxísmica en ejercicio prolongado, escalofríos y fiebre (4). Por otra parte, también se han descrito manifestaciones mixtas que incluyen una combinación de estos dos fenotipos.

## DESARROLLO DE LA INVESTIGACION

En este trabajo se ha estudiado la posible etiopatogenia de la deficiencia de CPT en tres pacientes con deficiencia hepática, muscular y mixta, a nivel molecular en cuanto al tamaño y nivel de expresión del mensaje, así como mediante la comparación de determinadas secuencias de la proteína con una posible función de chaperonina intra molecular.

**Características clínicas y bioquímicas de los pacientes**  
Se seleccionaron tres pacientes con distinto tipo de deficiencia en CPT.

**Paciente A:** Presentaba coma con convulsiones relacionadas con hipoglucemia después de 10 horas de ayuno, ligera hepatomegalia y ausencia de sintomatología muscular. Se observó una cetogénesis deficiente, acumulación de triglicéridos y actividad CPT claramente disminuida.

**Paciente B:** Experimentaba fuertes calambres musculares y rhabdmielosis después de un ejercicio físico prolongado. En la edad adulta presentó falla renal y la actividad de la CPT se encontraba muy disminuida en músculo y en fibroblastos.

**Paciente C:** Este paciente mostraba síntomas clínicos que se sobreponían con los encontrados en los pacientes A y B y mostraba una baja actividad de la CPT total.

### Material biológico

El hígado y tejido muscular pectoral de humanos se obtuvieron de autopsia 24 horas después de la muerte y se conservaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su utilización. Los fibroblastos de los pacientes se obtuvieron para su cultivo primario por biopsia de la epidermis y dermis de la superficie interna del antebrazo.

### Reactivos

Todos los reactivos utilizados fueron de grado analítico. La L-metil carnitina[ $\text{H}^3$ ], así como el dCTP[ $\alpha\text{-P}^{32}$ ] se obtuvieron de Amersham (UK). La palmitoil L-metil carnitina[ $\text{H}^3$ ] se sintetizó por el método de Pande modificado (5). Todos los reactivos, medios y el suero fetal de ternera utilizados en el cultivo de fibroblastos, así como el patrón de ARN para las electroforesis, eran de Gibco BRL (Bethesda Research Laboratories, Gaithersberg, MD).

### Cultivo primario de fibroblastos

El cultivo de fibroblastos de los tres pacientes se inició por biopsia de la epidermis junto con la dermis obtenidas de la superficie interna del antebrazo. Las pequeñas porciones de tejido se colocaron en una caja Petri de 100 mm que contenía un pequeño volumen de DMEM suplementado con 10% de suero fetal de ternera (FCS) y antibióticos. El tejido se cortó en piezas de aproximadamente  $1\text{ mm}^3$  y se colocaron 3 piezas por cada placa Petri de 35 mm debajo de un cubreobjetos. Después de añadir 2 ml de medio suplementado se incubó a  $37^{\circ}\text{C}$ . Al cabo de varios días se obtuvieron los primeros verdaderos fibroblastos. El cultivo secundario y los pases sucesivos se realizaron en presencia de penicilina (100 U/ml) y estreptomycin (100  $\mu\text{g/ml}$ ) a  $37^{\circ}\text{C}$  en atmósfera húmeda y 5% de  $\text{CO}_2$ .

### Medida de la actividad de la CPT

La actividad de la CPT se determinó, por el método de intercambio isotópico (3), en el sobrenadante de  $150 \times \text{g}$  a partir de un homogenado de fibroblastos en KCl 150 mM, Tris 50 mM, pH 7.4, obtenido por sonicación. La integridad mitocondrial fue verificada por la medida de la actividad citrato sintasa en el sobrenadante de  $9,000 \times \text{g}$ , durante 15 minutos. La actividad de la CPT I se midió por la aparición de la palmitoil L-metil carnitina[ $\text{H}^3$ ] producida a partir de la L-metil carnitina[ $\text{H}^3$ ] y la palmitoil-CoA. La mezcla de incubación contenía, en un volumen de 550  $\mu\text{l}$ , Tris 115 mM, pH 7.4, glutation reducido 4.5 mM, KCl 70 mM, palmitoil-CoA 110  $\mu\text{M}$ , en forma de complejo (1% peso/volumen) con albúmina sérica bovina libre de ácidos grasos y la muestra. La reacción se inició con 540  $\mu\text{l}$  ( $2 \times 10^5$  a  $5 \times 10^5$  cpm) de L-metil carnitina[ $\text{H}^3$ ] y se detuvo con 2 metil-1-propanol, según el método ya descrito (6), seguido de la adición de sulfato amónico. La fase orgánica resultante, después de dos extracciones con agua, se contaba en un contador de centelleo. La actividad CPT II se midió, después de fraccionar las membranas mitocondriales, por la producción de la L-metil carnitina[ $\text{H}^3$ ] a partir de la palmitoil L-metil carnitina[ $\text{H}^3$ ] y CoA en ausencia de albúmina, en un volumen final de 210  $\mu\text{l}$ , que contenía Tris-HCl 115 mM, pH 7.4, KCl 70 mM, CoA 8 mM, glutation reducido 4.5 mM y la muestra. La reacción se inició con palmitoil L-metil carnitina[ $\text{H}^3$ ] 2 mM y se detuvo con ácido perclórico 0.6 M. Después de centrifugar, la radiactividad de una

alícuota del sobrenadante se cuantificó en un contador de centelleo.

#### Obtención de ARN y análisis mediante "northern blot"

Los ARN de los fibroblastos procedentes de los tres tipos de pacientes con deficiencia en CPT, así como de hígado y músculo pectoral de humanos, se aislaron por el método del tiocianato de guanidina (7). Con hígado y músculo se partió de 1 g de tejido. Los fibroblastos, a confluencia (un total de 5 placas;  $16 \times 10^6$  células), se lavaron con tampón salino-fosfato (PBS) y se separaron de la placa con una solución desnaturalizante que contenía tiocianato de guanidina 4 M, citrato sódico 25 mM, pH 7.0, laurilsarcosina 0.5% y mercaptoetanol 0.1 M, se lisaron las células con puntas estériles. La suspensión se transfirió a tubos de centrifuga libres de ARNasas y se añadió acetato sódico hasta una concentración final de 0.2 M. La extracción con fenol-cloroformo se llevó a cabo tras la precipitación con isopropanol por los métodos rutinarios (8). Después se repitió una segunda extracción del ARN con la misma solución desnaturalizante seguida de una segunda precipitación con isopropanol. El precipitado de ARN se lavó con etanol al 75% y se redisolvió, en presencia de 0.5% de SDS a 65°C durante 10 minutos, en 50 µl de agua libre de ARNasas. La concentración de ARN se estimó por lectura de la absorbencia a 260 nm en función de la relación  $1 \text{ OD}_{260} \iff 40 \mu\text{g de ARN/ml}$ . La pureza de las preparaciones se evaluó por la relación  $\text{OD}_{260} / \text{OD}_{280} > 1.8$ . Las preparaciones se preservaron a -70°C hasta su utilización. Los ARN obtenidos ( $\approx 30 \mu\text{g}$  por pocillo), se fraccionaron en geles de agarosa al 0.8% que contenían 2.2 M de formaldehído, frente a 15 mg de un patrón de ARN (intervalo de 0.24 a 9.5 Kb). Después se transfirieron a membranas de nylon ("Gene Screen Plus", Dupont NEN) de Amersham y se hibridaron a 65°C con una sonda de ADN complementario (ADNc) de CPT II de humano (ADNc que contiene un marco abierto de lectura de 1,974 pb para 658 aminoácidos y un péptido líder de 25 aminoácidos). La homología entre CPT I y CPT II, en la región contenida por la sonda del ADNc, hace que bajo las condiciones de hibridación utilizadas, la sonda pueda reconocer a los ARN mensajeros de las dos enzimas; esta sonda estaba marcada radiactivamente por el método de reparación del DNA denominado "nick-translation" (8), en presencia de dCTP[ $\alpha\text{-P}^{32}$ ]

( $3 \times 10^6$  cpm/ml;  $1 \times 10^9$  cpm/µg de ADN). Las condiciones de hibridación se basaron en una preincubación de la membrana a 65°C en presencia de 1.4% de SDS, NaCl 1 M y 10% de dextran sulfato, durante 1 hora. Tras este periodo de prehibridación se añadió la sonda marcada junto con ADN de esperma de salmón ( $\geq 100 \mu\text{g/ml}$ ), ambos desnaturalizados por calor. La hibridación se llevó a cabo durante toda la noche en agitación constante y a 65°C. Las membranas se lavaron posteriormente dos veces con SSC 2x a temperatura ambiente durante 5 minutos, 2 veces con SSC 2x, 1% SDS a 60°C durante 30 minutos y, por último, dos veces con SSC 0.1x a temperatura ambiente durante 30 minutos. Las membranas se expusieron entre 12 y 48 horas a -70°C con películas Kodak XAR.

#### Comparación de secuencias proteicas

La comparación de secuencias proteicas se llevó a cabo entre determinadas secuencias de aminoácidos, derivados de la secuencia de nucleótidos del ADNc para CPT de humano, clonada en nuestro laboratorio (9) y secuencias de distintas proteínas pertenecientes a la familia de la subtilisina obtenidas de GDB (Genomic DataBase) y Prot-Wev en la Universidad Johns Hopkins (Correo electrónico: <http://www.gdb.org/hopkins.html>). Se utilizó para el alineamiento el programa DNASTAR MegAlign Clustal.

## RESULTADOS

Los tres pacientes estudiados presentan una deficiencia de CPT. En función de la actividad de la CPT y de los síntomas clínicos que presentan estos pacientes, se puede establecer una clasificación de éstos en: pacientes con deficiencia hepática de CPT (Paciente A), con deficiencia muscular (Paciente B) y con deficiencia mixta o múltiple (Paciente C). Esta clasificación se establece, fundamentalmente, en función de las actividades CPT I y CPT II en relación con las reacciones que catalizan.

El paciente A, que presenta síntomas relacionados con una disfunción hepática, presenta una actividad de CPT I (reacción directa) disminuida frente a los controles, mientras que su actividad de CPT II es normal (reacción inversa). Por el contrario, el paciente B, que muestra signos claros de una disfunción muscular, presenta una actividad de la CPT II disminuida. Por último, el paciente C muestra una deficiencia tanto en la CPT I como en la CPT II.

TABLA I

## ACTIVIDAD CARNITINA PALMITOILTRANSFERASA Y PRESENTACION CLINICO-PATOLOGICA DE LOS PACIENTES ESTUDIADOS

PACIENTE	CPT-I <sup>a</sup>	CPT-II <sup>b</sup>	PRESENTACION CLINICA <sup>c</sup>
Control (Fc)	2.1 ± 0.3 <sup>d</sup>	12.2 ± 2.3	-
A	0.5 ± 0.07	11.3 ± 1.9	Hepática
B	2.7 ± 0.4	5.4 ± 0.7	Muscular
C	0.4 ± 0.06	8.6 ± 1.2	Mixta

<sup>a</sup>Medida de palmitoilcarnitina.

<sup>b</sup>Medida de carnitina.

<sup>c</sup>Presentación clínica en función de la sintomatología de los pacientes y de la actividad de la CPT deficitaria.

<sup>d</sup>Los resultados se expresan como media ± SEM en nmoles/minuto/mg de proteína de tres valoraciones independientes.

La figura 2 muestra los resultados obtenidos del estudio de los ARN, por técnicas de "northern blot", aislados a partir de fibroblastos correspondientes a los tres tipos de pacientes y a individuos control, así como los obtenidos de hígado y músculo de humanos como controles del método utilizado. Tras su aislamiento, como se describió, y tras la hibridación con el ADNc correspondiente a la CPT II de humano, se obtiene una única especie de ARNm que corresponde a un tamaño de 3.1 kb. En los tres tipos de pacientes, en relación al control, se obtiene el mismo tamaño del mensaje y, sin variaciones estadísticamente significativas, un nivel similar de expresión, estimado por densitometría de las bandas después de la autorradiografía. Si la expresión de los ARN mensajeros de las CPT I y II en el fibroblasto refleja lo que ocurre en el hígado y el músculo de los pacientes afectados, estos resultados sugieren que las mutaciones responsables de las alteraciones en las actividades enzimáticas de las CPT son alteraciones puntuales que no tienen efecto ni sobre el tamaño de los mensajeros maduros ni sobre su nivel de expresión o su vida media.

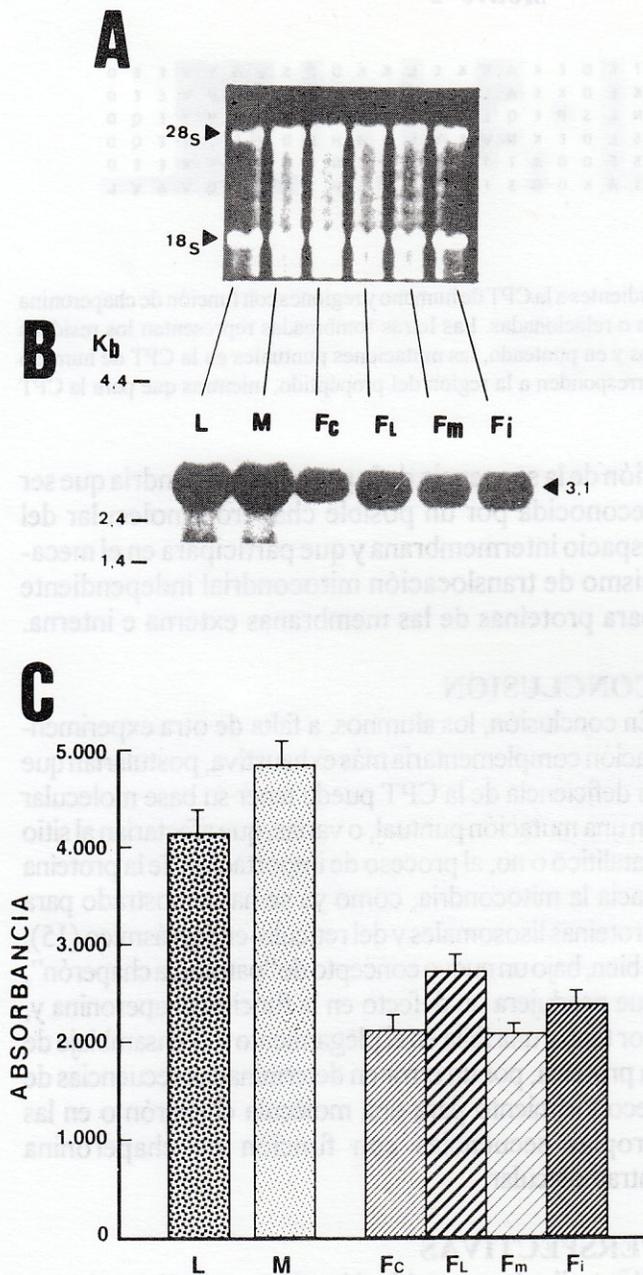
Por otra parte, se estudió la homología entre las secuencias de aminoácidos correspondientes a la CPT de humano, deducidas del ADNc, y determinadas secuencias con función de chaperonina intramolecular, especialmente en proteínas de la familia de la subtilisina, en esta comparación se incluyó una mutación puntual descrita por Taroni y

col (10) para la CPT de humano. En la figura 3 se muestra el alineamiento entre distintas secuencias correspondientes a la región madura de la proteína CPT de humano y algunas secuencias con función chaperonina intramolecular de la familia de la subtilisina, se observa una homología relativamente alta en especial al nivel de los aminoácidos hidrofóbicos correspondientes a los dos motivos que participan en esta función coadyuvante del plegamiento y ensamblaje proteico. Obsérvese que la mutación puntual que produce el cambio de la valina 368 por una isoleucina (letra en punteado) se encuentra dentro del motivo 2 en el alineamiento.

## DISCUSION

La enzima carnitina palmitoiltransferasa es una proteína asociada a las membranas mitocondriales, la CPT I de la membrana externa y la CPT II de la membrana interna, en conjunción con las acil-CoA sintetetas y la carnitina/acilcarnitina translocasa (Fig 1). Es una proteína codificada en el núcleo que posibilita el metabolismo mitocondrial de los ácidos grasos.

La deficiencia hereditaria recesiva de la CPT en humanos se ha descrito a través de dos fenotipos diferentes, una forma adulta más común con episodios recurrentes de necrosis muscular y, otra forma infantil, más rara, que se caracteriza por episodios de hipoglucemia no cetónica, hiperamonemia y falla hepática generalizada. A pesar de estos dos fenotipos claramente definidos, se encuentra en esta deficien-



**Figura 2.** Estudio por "northern blot" de los ARN obtenidos a partir de hígado (L) y músculo pectoral de humanos (M) y fibroblastos control (F<sub>c</sub>), fibroblastos de pacientes con deficiencia hepática (F<sub>l</sub>), muscular (F<sub>m</sub>) y mixta (F<sub>i</sub>) de carnitina palmitoiltransferasa. A) Electroforesis de ARN después de la tinción con bromuro de etidio. Se muestra la posición de los ARN ribosómicos 28S y 18S. B) "Northern blot" de los ARN después de la hibridación con ADNc para la CPT de humano. El tamaño de la única especie de ARNm para la CPT, que resultó ser de 3.1 kb, se estimó a partir del patrón de ARN que se muestra a la izquierda. C) Resultado del densitometrado de bandas tras la autorradiografía, a partir de tres experimentos independientes y expresados como media  $\pm$  la desviación estándar.

cia una alta heterogeneidad clínica, lo que hace pensar en distintas posibilidades etiopatogénicas, como pueden ser la existencia de diferentes mutaciones en el mismo alelo, la alteración de diferentes formas de la CPT o bien la presencia de mutaciones puntuales y específicas para la CPT I y CPT II. Los resultados presentados en este trabajo en relación al estudio del tamaño del mensaje y los niveles de expresión para la CPT en tres diferentes tipos de pacientes con una deficiencia en esta proteína, apoyan la hipótesis de que la causa de los distintos tipos de deficiencia en la CPT podría estar relacionada con mutaciones puntuales que afectarían la funcionalidad de la proteína y no a "deleciones" parciales del gen o a alteraciones en la región promotora. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por Taroni y col (10), que han descrito, para dos tipos concretos de pacientes con deficiencia en CPT II, mutaciones sin sentido (un cambio de una base da lugar a un codón de parada) que no alteran, tras su expresión *in vitro*, el valor de la  $K_m$  ni la síntesis de la proteína, mientras que producen una dramática reducción de la capacidad catalítica ( $V_{max}$ ) y del nivel del estado estacionario de la proteína, lo que puede tener que ver con una disminución de la estabilidad molecular.

Shinde e Inouye (11) han descrito la existencia, tanto en proteínas de eucariotos como de procariotos, de determinadas secuencias, altamente hidrofóbicas, en forma de propéptidos en el extremo N-terminal, que presentan una función de chaperones intramoleculares, para distinguirlos de los chaperones moleculares clásicos. Estas secuencias son esenciales para el proceso de maduración de la proteína e indispensables para su plegamiento y ensamblaje funcional.

El estudio del alineamiento de la CPT de humano, que se muestra en este trabajo (Fig 3), ofrece una alta homología con estas secuencias, lo que hace pensar que determinadas regiones de la zona madura de la CPT podrían participar como chaperones intramoleculares en el proceso de maduración de esta proteína.

Ya que las interacciones hidrofóbicas son esenciales, generalmente para la estructura funcional y el plegamiento de una proteína, especialmente para el plegamiento de la prosubtilisina (12), cabe pensar

Enzima	Motivo 1	Motivo 2
Subtilisin E	K K Y I V G F K Q T	A A A A T L D E K A V K E L K K D P S V A Y V E E D
Subtilisin Carlsberg	K D Y I V G F K S G	A A K A K L D K E A L K E V K N D P D V A Y V E E D
Alkaline serine exoprotease A	D R Y I V V F Q Q P	G F V A N L S P E Q L K D L R S D P R V D Y I E Q D
Protease R	D K Y I V K L K E G	G F A A S L D E K M V E V L R A H P D V E Y I E Q D
Alkaline protease	G K Y I V T F K F G	A Y A G S F D D A T I E E I R K N E D V A Y V E E D
Human CPT (125-134; 356-381)	D S V V L N F N P F	F N L I I A K D G S T A V H F E H S W E D G Y A V L
Human CPT (240-249)	A R H L L V L R K G	
Human CPT (355-364)	S F N L I I A K D G	
Human CPT (375-384)	G D G V A V L R F F	

**Figura 3.** Comparación de las secuencias proteicas entre regiones correspondientes a la CPT de humano y regiones con función de chaperonina intramolecular correspondientes a proteínas de la familia de la subtilisina o relacionadas. Las letras sombreadas representan los residuos hidrofóbicos conservados. Las letras en texto normal, los residuos cargados y en punteado, las mutaciones puntuales en la CPT de humano ( $V_{368}I$ ). Las secuencias para las proteínas de la familia de la subtilisina corresponden a la región del propéptido, mientras que para la CPT de humano corresponden a la parte madura de la proteína.

que un cambio o mutación en una de estas regiones, pudiera afectar a la función de la proteína. Las mutaciones descritas hasta ahora en la CPT de humano, curiosamente una de ellas, la Ser(113)Leu que se trata del mismo cambio de un sitio supresor de mutación en la molécula de subtilisina (12), no afectan la interacción de la proteína con los sustratos y sí la actividad, lo que hace suponer que sus efectos se relacionan más bien con alteraciones complejas a nivel de la supraestructura de la proteína. Por otra parte, también está demostrado, en mitocondrias, que algunas proteínas con una conformación anómala se degradan más rápidamente y que un plegamiento inapropiado de las proteínas multiméricas se traduce en una degradación acelerada de dichas proteínas (13).

El hecho de que una mutación en la CPT afecte a su susceptibilidad para la proteólisis, apoyaría la idea de que estarían afectadas determinadas regiones hidrofóbicas con una posible función de chaperonina, en este caso intramolecular, ya que serían regiones que formarían parte de la propia proteína que se ha de plegar y, por tanto, conllevaría a un plegamiento anómalo de la proteína.

No se puede descartar tampoco, en función del modelo independiente de translocación propuesto por Segui-Real y col (14), que el defecto producido por una mutación puntual se tradujera en una altera-

ción de la secuencia de la proteína que tendría que ser reconocida por un posible chaperón molecular del espacio intermembrana y que participara en el mecanismo de translocación mitocondrial independiente para proteínas de las membranas externa e interna.

## CONCLUSION

En conclusión, los alumnos, a falta de otra experimentación complementaria más exhaustiva, postularían que la deficiencia de la CPT puede tener su base molecular en una mutación puntual, o varias, que afectarían al sitio catalítico o no, al proceso de importación de la proteína hacia la mitocondria, como ya se ha demostrado para proteínas lisosomales y del retículo-endoplásmico (15), o bien, bajo un nuevo concepto de "patología chaperón", que produjera un defecto en la función chaperonina y, por tanto, una falla en el plegamiento y el ensamblaje de la proteína, por un error en determinadas secuencias de reconocimiento para una molécula chaperón o en las propias secuencias con función de chaperonina intramolecular.

## PERSPECTIVAS

El estudio de una población más amplia de pacientes con deficiencia en la CPT a nivel del análisis funcional de ciertas regiones hidrofóbicas de la proteína, así como el estudio bioquímico y molecular de los distintos intermediarios del proceso de plegamiento, puede dilucidar la posible etiopatogenia molecular para esta deficiencia.

## REFERENCIAS

1. Di Mauro S, Bonilla E, Zeviani M, Servidei S, De Vivo D C y Schon E A (1987) Mitochondrial Myopathies. *J Inher Metab Dis* 10:113-128.
2. Brady P S, Ramsay R R y Brady L J (1993) Regulation of the long-chain carnitine acyltransferases. *FASEB J* 7:1039-1044.
3. Demaugre F, Bonnefont J P, Mitchell G, Nguyen-Hoang N, Pelet A, Rimoldi M, DiDonato S y Saudubray J M (1988) Hepatic and muscular presentations of carnitine palmitoyltransferase deficiency: two distinct entities. *Pediatr Res* 24:308-311.
4. Hoppel C L (1990) Carnitine palmitoyltransferase deficiency. En *Fatty acid oxidation: Clinical, Biochemical and Molecular aspects*. Editores: Tanaka, K y Coates, P M. Alan R Liss. New York. pp 435-450.
5. Murthy M S R y Pande S V (1984) Mechanism of carnitine acylcarnitine translocase-catalyzed import acylcarnitines into mitochondria. *J Biol Chem* 259:9082-9089.
6. Solberg M E (1972) Different carnitine palmitoyltransferase in calf liver. *Biochim Biophys Acta* 280:422-433.
7. Chomczynski P y Sacchi N (1987) Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 162:156-159.
8. Sambrook J, Fritsch E F y Maniatis T (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. New York: Cold Spring Harbor.
9. Finocchiaro G, Taroni F, Rocchi M, Liras A, Colombo I, Torri-Tarelli G y DiDonato S (1991) cDNA cloning, sequence analysis, and chromosomal localization of the gene for human carnitine palmitoyltransferase. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:661-665.
10. Taroni F, Verderio E, Fiorucci S, Cavadini P, Finocchiaro G, Uziel G y DiDonato S (1992) Molecular characterization of inherited carnitine palmitoyltransferase II deficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:8429-8433.
11. Shinde U e Inouye M (1993) Intramolecular chaperones and protein folding. *Trends Biochem Sci* 18:442-446.
12. Kobayashi T e Inouye M (1992) Functional analysis of the intramolecular chaperone. *J Mol Biol* 226:931-933.
13. Isaya G, Fenton W A, Hendrick J P, Furtak K, Kalousek F y Rosenberg L E (1988) Mitochondrial import and processing of mutant human ornithine transcarbamylase precursors in cultured cells. *Mol Cell Biol* 8:5150-5158.
14. Segui-Real B, Kispal G, Lill R y Neupert W (1993) Functional independence of the protein translocation machineries in mitochondrial outer and inner membranes: passage of preproteins through the intermembrane space. *EMBO J* 12:2211-2218.
15. Amara J F, Cheng S H y Smith A E (1992) Intracellular protein trafficking defects in human disease. *Trends Cell Biol* 2:145-149.

# UN METODO SIMPLE PARA OBTENER ANTICUERPOS POLICLONALES: ELABORACION DE ANTICUERPOS DE GALLINA

Horacio Reyes Vivas y Felipe López Moreno. Departamento de Bioquímica, Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez. Juan Badiano # 1, Tlalpan, México 14000, DF, México.

Recibido: Enero 16 de 1996. Aceptado: Mayo 7 de 1996.  
Bol Educ Bioq (México) 15(2):70-73

## RESUMEN

Las yemas del huevo de las gallinas inmunizadas pueden ser una fuente importante de anticuerpos policlonaes (IgY). El empleo de anticuerpos de gallina presenta ventajas considerables sobre los anticuerpos de mamíferos. Debido a la diferencia filogenética entre aves y mamíferos, existe una gran antigenicidad ante los inóculos de mamífero, lo que aumenta la sensibilidad tanto de técnicas inmunológicas, como de inmunofluorescencia. En este trabajo se describe una técnica sencilla para inmunizar y obtener IgY mediante precipitaciones con polietilenglicol. Este método permite obtener anticuerpos de gallina inmunizada, con un alto grado de pureza y rendimiento. Además, el título de los IgY aislados permanece considerablemente alto durante una semana.

**PALABRAS CLAVE:** Técnicas inmunológicas, aislamiento de inmunoglobulinas, anticuerpos de gallina, estudio comparativo.

## ABSTRACT

Yolk from immunized chickens may provide an important source of polyclonal antibodies (IgY). Avian antibodies have many advantages over mammalian antibodies. Due to the phylogenetic differences between birds and mammals, a high immune response can be induced by mammalian antigens, with increased sensitivity, both in immunological and in immunofluorescence assays. In this work it is described a simple method for immunization and purification of IgY by polyethylene glycol precipitation. This method gives large quantities of highly purified IgY. In addition, the titre of the

isolated IgY appears to remain at a high level for a week.

**KEY WORDS:** Immunochemical methods, immunoglobulins fractionation, chicken antibodies, comparative study.

## INTRODUCCION

La purificación de proteínas requiere de métodos que permitan su obtención con un alto grado de pureza. Una de las técnicas más empleadas para ello es la cromatografía por inmunofluorescencia. Esta técnica requiere de la producción de anticuerpos dirigidos contra la proteína a purificar, para unirlos a un soporte de sefarosa y montarse en una columna. La formación de anticuerpos policlonaes se ha llevado a cabo tradicionalmente en mamíferos tales como ratones o conejos. Esto se debe, en parte, al fácil manejo y reproducción de dichas especies en condiciones de laboratorio o bioterio. Así mismo, se han utilizado ovejas, caballos y reses para obtener cantidades considerables de suero inmune. Sin embargo, a medida que se emplea una especie de mayor tamaño, se requiere incrementar la cantidad del inóculo para producir la respuesta antigénica.

Además de depender del tamaño del organismo y de la cantidad del inóculo, la antigenicidad también depende de la diferencia filogenética que exista entre el antígeno y el organismo a inmunizar. De esta forma, si se desea producir anticuerpos contra una proteína de mamífero y se utilizan ratones, se corre el riesgo de que ésta no sea reconocida como cuerpo extraño. Sin embargo, es probable que la limitante más importante, en cuanto a la producción de anticuerpos policlonaes en especies menores, sea la de sacrificar al animal para obtener el suero inmune. Lo anterior obliga a inocular a una población considerable de animales para obtener

suficiente cantidad de anticuerpo, lo que a su vez significa que hay que conseguir una mayor cantidad de proteína para inmunizar.

La disección del sistema inmunitario de las gallinas permitió conocer la actividad inmunológica de estas aves. Debido a ello se conoce que la respuesta a los estímulos antigénicos está altamente desarrollada en las gallinas. También se ha observado que las gallinas, al igual que los mamíferos, transfieren sus anticuerpos (IgY) a las crías y así las protegen contra organismos invasores (antígenos) (1). De esta forma, del grupo de anticuerpos que circulan en el suero del ave, sólo los del tipo monomérico y con un coeficiente de sedimentación de 7S se transfieren a la yema, lo que le confiere inmunidad pasiva al embrión del pollo (2). Respecto a la cantidad de anticuerpo que se transfiere al huevo, Patterson y col (3) encontraron que los valores en la yema son iguales o mayores que los presentes en el suero del ave.

Si la obtención de anticuerpos a partir de la yema del huevo presenta tantas ventajas ¿por qué no se emplean las aves de corral para la producción de anticuerpos policlonales específicos?

Probablemente la principal objeción para utilizar gallinas como productoras de anticuerpos era la dificultad de separar los IgY del resto del material liposoluble de la yema. Desde los años cincuenta, se han descrito diversos métodos de separación que sólo permitían obtener rendimientos bajos de anticuerpo (IgY), con un alto costo en horas de trabajo. No fue sino hasta 1980 que Polson y col (4), reportaron un método de purificación que consiste en precipitar la yema del huevo con diferentes concentraciones de polietilenglicol (PEG). Esta técnica permite separar, con un grado de pureza considerable, de 6 a 12 mg de IgY del resto de las proteínas de la yema. Nuestra experiencia en el laboratorio es que la administración subcutánea de tres dosis por semana de 200 µg de inóculo en adyuvante completo de Freund, permite obtener títulos altos de anticuerpos específicos. Sin embargo, existen reportes donde se emplean sólo 30 µg de inóculo para inducir el estímulo antigénico, mediante el esquema de inmunización anterior (5).

Si bien la técnica de purificación con PEG no ha tenido modificaciones importantes desde 1980, se

debe mencionar que existen actualmente diferentes métodos de aislamiento de las inmunoglobulinas igualmente accesibles, que sólo difieren entre ellos en el rendimiento y grado de pureza de las IgY obtenidas (1, 6 y 7).

#### TECNICA DE SEPARACION CON PEG

Esta técnica consiste, en forma resumida, en lo siguiente: se separan las claras de las yemas del huevo, estas últimas se disuelven en un volumen igual de PBS (0.01% de  $\text{NaN}_3$ , 100 mM de NaCl y 10 mM de  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  pH 7.5). En la mezcla se disuelve PEG-8000 pulverizado en una concentración final de 3.5% (p/v). La mezcla se agita durante 30 minutos a temperatura ambiente y posteriormente se centrifuga a 23,000 g/10 minutos para eliminar las proteínas precipitadas. El sobrenadante debe pasarse dos veces por un embudo con tapón de algodón. Al filtrado obtenido se le añade PEG-8000 hasta obtener una concentración final de 12% para precipitar los anticuerpos. Después de disolverse completamente el polímero, la mezcla se centrifuga a 12,000 g/10 minutos. El botón resultante se resuspende en PBS al volumen original de la yema del huevo y se añade  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  hasta obtener una concentración final de 2 M. La mezcla se agita durante 30 minutos a 4°C y se centrifuga a 12,000 g/10 minutos. El botón que se obtiene se resuspende en PBS, se dializa exhaustivamente contra PBS y se concentra.

A continuación se enumeran algunas ventajas que presenta el sistema de IgY sobre los métodos convencionales de producción de anticuerpos en mamíferos:

1) Cuando se emplean inóculos en cantidades de microgramos, la producción de anticuerpos específicos se mantiene elevada hasta por más de ocho días. Si se quieren mantener los títulos altos durante más tiempo, conviene administrar dosis de refuerzo. Las aves de corral de la línea "Delkalb-Warren" son capaces de poner un huevo diario. Si de cada yema se obtienen 10 mg de IgY, en ocho días se tendrían aproximadamente 80 mg de IgY totales. Por otro lado, si se utilizan cantidades de inóculo del orden de miligramos, es posible mantener los títulos altos por más de 60 días (4). Es importante advertir que no deben administrarse a las gallinas más de 250 µl de adyuvante completo de Freund por inyección, pues de lo contrario el ave se irrita demasiado y deja de producir huevos.

2) La titulación de anticuerpos puede hacerse de cada yema del huevo obtenida diariamente y no se necesita insistir en la diferencia del esfuerzo requerido para sangrar conejos y recolectar huevos. Además, los huevos se pueden almacenar en refrigeración y procesarse después de un mes, sin que la calidad y rendimiento del anticuerpo se afecte. Respecto a la especificidad, Polson y col (4), reportan que existe de 15 al 18% de anticuerpo específico. Esto significa que se requieren aproximadamente diez huevos para obtener cantidades semejantes de anticuerpo específico al que produce un conejo inoculado en las mismas condiciones. Sin embargo, debido al tiempo corto que se requiere para obtener 10 yemas sigue resultando más atractiva la recolección de huevos.

3) La técnica de precipitación con PEG permite obtener IgY como principal componente molecular (aproximadamente 70 kDa). Esto le confiere al método de purificación una gran ventaja, ya que las columnas de proteína A o G utilizadas para separar IgG del resto de las globulinas en mamíferos, no unen anticuerpos de gallina (8). Sin embargo, recientemente el grupo de Serhir (9), aisló una proteína G del estreptococo que presenta una alta afinidad por la IgY.

4) Debido a que los anticuerpos de gallina están glicosilados en sus cadenas pesadas, es posible

marcarlos con biotina para unirlos a soportes de BCN-Sepharosa y montarse en columnas. Larsson y col (10), han optimizado la técnica de biotización para este tipo de inmunoglobulinas. Por otro lado, si se desean realizar estudios inmunológicos, existen en el mercado anticuerpos "antigallina" que permiten utilizar técnicas más sensibles como la de "ELISA" o el "Western blot".

5) La manutención de una gallina es más barata que la de otros animales de laboratorio convencionales. Además, un ave de corral presenta gran docilidad al momento de manipularse.

6) Debido a la diferencia evolutiva entre mamíferos y aves, es posible obtener la respuesta antigénica con concentraciones bajas de proteínas altamente conservadas entre mamíferos. Más aún, el empleo de IgY en inmunoensayos clínicos permite eliminar "falsos positivos" por la presencia de anti-anticuerpos humanos, como el factor reumático (11).

En este reporte describimos un método alternativo para producir anticuerpos cuya ventaja técnica permite considerarse como una herramienta inmunológica no sólo para purificar proteínas. Este sistema puede aplicarse con fines terapéuticos o de análisis clínicos si se considera que una granja puede dedicarse a la producción a gran escala de uno o varios IgY contra algún antígeno en particular.

## REFERENCIAS

- Jesenius J C, Andersen I, Hau J, Crone M y Koch C (1981) Eggs: conveniently packaged antibodies. Methods for purification of yolk IgG. *J Immunol Meth* 46:63-68.
- Malkinson M (1965) The transmission of passive immunity to *Escherichia coli* from mother to young in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Immunology* 9:311-317.
- Patterson R, Youngner J S, Weigle W O y Dixon F J J (1962) The metabolism of serum proteins in the hen and chick and secretion of serum proteins by the ovary of the hen. *J gen Physiol* 45:501-513.
- Polson A, Von Wechmar B y Van Regenmortel M H V (1980) Isolation of viral IgY antibodies from yolks of immunized hens. *Immunol comm* 9:475-493.
- Kang C B H y Ho K K (1991) Characterization of a soluble inorganic pyrophosphatase from *Microcystis aeruginosa* and preparation of its antibody. *Arch Biochem Biophys* 289: 281-288.
- Bhanushali J K, Gilbert J M y McDougald L R (1994) Simple method to purify chicken immunoglobulin G. *Poult Sci* 73:1158-1161.
- Svendsen L, Crowley A, Ostergaard L H, Stodulski G y Hau J (1995) Development and comparison of purification strategies for chicken antibodies from egg yolk. *Lab Anim Sci* 45:89-93.
- Akerström B, Brodin T, Reis K y Björck L (1985) Protein G: a powerful tool for binding and detection of monoclonal and polyclonal antibodies. *J Immunol* 135:2589-2592.

- 9. Serhir B, Dubreuil D, Higgins R y Jacques M (1995) Purification and characterization of a 52-kilodalton immunoglobulin G-binding protein from *Streptococcus suis* capsular type 2. *J Bacteriol* 177:3830-3836.
- 10. Olovsson M y Larsson A (1993) Biotin labelling of chicken antibodies and their subsequent use in ELISA and immunohistochemistry. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 16:145-152.
- 11. Larsson A, Parra-Karlsson A y Sjöquist J (1991) Use of chicken antibodies in enzyme immunoassays to avoid interference by rheumatoid factors. *Clin Chem* 37:411-414.

ta diferencias con respecto a los individuos de otra especie, de la misma especie, de la misma cepa e incluso, diferencias a veces importantes entre familias consanguíneas.

Las diferencias mostradas por un individuo con respecto a otro de la población, se debe a: 1) La carga genética que ha heredado a través de todo el proceso evolutivo (genotipo); 2) La expresión de sus posibilidades genéticas (fenotipo) y 3) Los procesos de adaptación, que incluyen la posibilidad de cambios en algunas funciones, debido a las modificaciones del genotipo o a las nuevas manifestaciones fenotípicas, todo ello inducido por estímulos ya sean internos o externos.

Una determinada combinación del genotipo y fenotipo individualiza a un organismo en sus características visibles, pero también en las miles de características que no son evidentes, como los niveles o la actividad de las enzimas metabólicas o de las proteínas transportadoras, la concentración iónica o extracelular de metabolitos o de cofactores, etc.

Cualquier característica de un organismo es el resultado de la interacción de un determinado número de propiedades gen y fenotípicas, las cuales se suman y se cancelan de manera particular y dan una variación individual a tal característica.

**DISTRIBUCION DE UNA POBLACION**

Para ejemplificar lo anterior se muestra la figura 1, donde se representa una curva de distribución normal de una población imaginaria para la frecuencia de una característica X. Como puede observarse, el grueso de la población, aproximadamente el 68%, se encuentra alrededor de los valores de tendencia central ( $\bar{x} \pm DE$ ). El 32% restante se distribuye en un extremo y otro de la curva y representa a los individuos de la población cuya frecuencia de distribución los hace estadísticamente diferentes (1)

Resúmenes de los artículos publicados en el número 15(2) de la revista *BEB* (México) 15(2):71-73

**RESUMEN**

El estudio de las enfermedades es un proceso sumamente complejo que requiere del análisis de diversos criterios, tales como: la etiología, la patogenia, la fisiopatología, el diagnóstico, el pronóstico y su tratamiento. El tomar uno solo de estos criterios no solamente es difícil, sino que muchas veces resulta insuficiente. Pocos veces se toma en consideración que en todas las respuestas biológicas los organismos presentan variaciones individuales, bajo el mismo estímulo y en las mismas condiciones. Esta revisión destaca la importancia de considerar a la susceptibilidad individual como un criterio adicional y válido en el estudio de las enfermedades.

**PALABRAS CLAVE:** susceptibilidad individual, variabilidad biológica, enfermedad.

**ABSTRACT**

The study of diseases is a very complex process, it need the analysis of some criterion about diseases, like etiology, pathology, symptomatology, diagnostic, prognostic and treatment. To take just one of these criterion not only is hard, but also most of the times is insufficient. Hardly ever is taken in consideration that all organisms are exhibiting individual variability in response to the same stimulus under the same conditions. This review show the relevance of individual susceptibility as an additional and valuable criterion in the study of diseases.

**KEY WORDS:** Individual susceptibility, biological variability, disease.

**INTRODUCCION**

Cada organismo responde de manera particular a los estímulos internos y externos; un organismo presen-

## LA SUSCEPTIBILIDAD INDIVIDUAL EN EL ESTUDIO DE LAS ENFERMEDADES

José Víctor Calderón Salinas y Araceli Florido Segoviano. Departamento de Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Instituto Politécnico Nacional. Apartado Postal 14-740, México 07000, DF, México.

Recibido: Marzo 23 de 1996. Aceptado: Mayo 7 de 1996.

Bol Educ Bioq (México) 15(2):74-77

### RESUMEN

El estudio de las enfermedades es un proceso sumamente complejo que requiere del análisis de diversos criterios, tales como: la etiología, la patogenia, la sintomatología, el diagnóstico, el pronóstico y su tratamiento. El tomar uno solo de estos criterios no solamente es difícil, sino que muchas veces resulta insuficiente. Pocas veces se toma en consideración que en todas las respuestas biológicas los organismos presentan variaciones individuales, bajo el mismo estímulo y en las mismas condiciones. Esta revisión destaca la importancia de considerar a la susceptibilidad individual como un criterio adicional y valioso en el estudio de las enfermedades.

**PALABRAS CLAVE:** Susceptibilidad individual, variabilidad biológica, enfermedad.

### ABSTRACT

The study of diseases is a very complex process, it need the analysis of some criterions about diseases, like etiology, pathology, symptomatology, diagnostic, prognostic and treatment. To take just one of these criterions not only is hard, but also most of the times is insufficient. Hardly ever is taked in consideration that all organisms are exhibiting individual variability in response to the same stimulus under the same conditions. This review show the relevance of individual susceptibility as an additional and valuable criterion in the study of diseases.

**KEY WORDS:** Individual susceptibility, biological variability, disease.

### INTRODUCCION

Cada organismo responde de manera particular a los estímulos internos y externos; un organismo presen-

ta diferencias con respecto a los individuos de otra especie, de la misma especie, de la misma cepa e incluso, diferencias a veces importantes entre familiares consanguíneos.

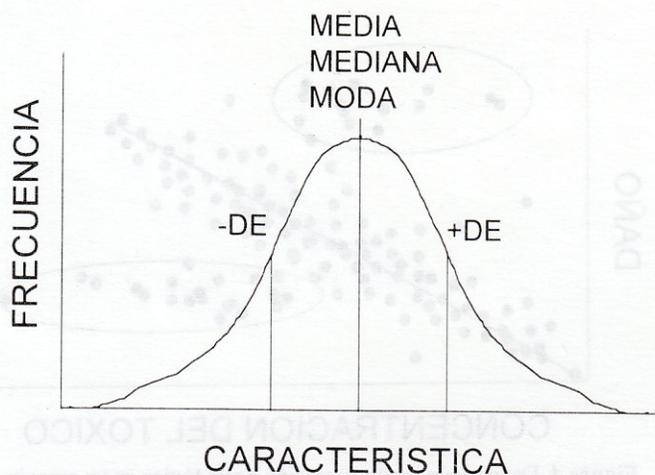
Las diferencias mostradas por un individuo con respecto al resto de la población, se deben a: 1) La carga genética que ha heredado a través de todo el proceso evolutivo (genotipo); 2) La expresión de sus posibilidades genéticas (fenotipo) y 3) Los procesos de adaptación, que incluyen la posibilidad de cambios en algunas funciones, debido a las modificaciones del genotipo o a las nuevas manifestaciones fenotípicas, todo ello inducido por estímulos ya sean internos o externos.

Una determinada combinación del genotipo y fenotipo individualiza a un organismo en sus características visibles, pero también en las miles de características que no son evidentes, como los niveles o la actividad de las enzimas metabólicas o de las proteínas transportadoras, la concentración intra o extracelular de metabolitos o de cofactores, etc.

Cualquier característica de un organismo es la resultante de la interacción de un determinado número de propiedades geno y fenotípicas, las cuales se suman y se cancelan de manera particular y dan una variación individual a tal característica.

### DISTRIBUCION DE UNA POBLACION

Para ejemplificar lo anterior se muestra la figura 1, donde se representa una curva de distribución normal de una población imaginaria para la frecuencia de una característica X. Como puede observarse, el grueso de la población, aproximadamente el 68%, se encuentra alrededor de los valores de tendencia central ( $\bar{x} \pm DE$ ). El 32% restante se distribuye en un extremo y otro de la curva y representa a los individuos de la población cuya frecuencia de distribución los hace estadísticamente diferentes (1).



**Figura 1.** Curva de distribución de frecuencias para una característica de una población imaginaria, con comportamiento normal. Se indican los valores de tendencia central (media, mediana, moda), que para esta población coinciden en el mismo punto. También se indican los puntos de la curva con una desviación estándar negativa (-DE) y una desviación positiva (+DE).

La diferencia estadística de los individuos de los extremos no necesariamente coincide con diferencias biológicas, pero es una de las bases para clasificar a un grupo de la población como diferente. Por ejemplo, si la característica X es la estatura, podemos distinguir claramente que existen, dentro de cualquier población, individuos clasificados como muy altos y otros como muy bajos. La frecuencia de estos extremos y la homogeneidad de la población pueden terminar por definir los extremos como realmente diferentes o incluso podrían permitir el establecimiento de una población distinta.

Estas diferencias estadísticas pueden conferir ventajas evolutivas a los portadores, pero más importante aún, pueden ser heredadas y perpetuarse si existen dichas ventajas para la presencia de la característica; sin embargo, también podrían desaparecer si una presión evolutiva le confiere desventajas con respecto al resto de la población.

Es en condiciones de presión evolutiva cuando muchas características particulares, aparentemente ocultas, se pueden manifestar en un organismo; un tipo de presión evolutiva podrían ser algunas enfermedades o los daños por agentes tóxicos.

### **EFFECTO DE UNA PRESION EVOLUTIVA SOBRE UNA POBLACION**

En el caso de los tóxicos es bien conocida la capacidad de múltiples organismos de responder

adaptativamente o por selección a un daño. Es importante diferenciar entre la respuesta adaptativa y la selección, debido a que el resultado final es el mismo. La respuesta adaptativa se produce cuando se expresa en una población, una característica ya determinada y aparentemente oculta, que le permite a los organismos responder al nuevo estímulo. En el caso de la selección, se trata de una función, no aparente hasta ese momento, que les permite sobrevivir a las nuevas condiciones a unos cuantos organismos, los cuales al reproducirse, la heredan a su descendencia y toman, finalmente, el lugar de la población anterior.

Es bien conocida la presencia de procesos ya sean adaptativos o selectivos en microorganismos, en este sentido la resistencia a los antibióticos ha enseñado mucho (2). No obstante, los microorganismos no son los únicos que pueden desarrollar estos procesos. Si bien es cierto que en el humano es más complicado el identificar y definir los procesos de adaptación o de selección, éstos tienen lugar y se presentan de la misma forma que en los microorganismos (3).

En el humano, con un análisis simple, se podrían identificar algunas diferencias que son debidas a las características genotípicas y fenotípicas particulares del organismo y que constituyen la variabilidad individual (4 y 5).

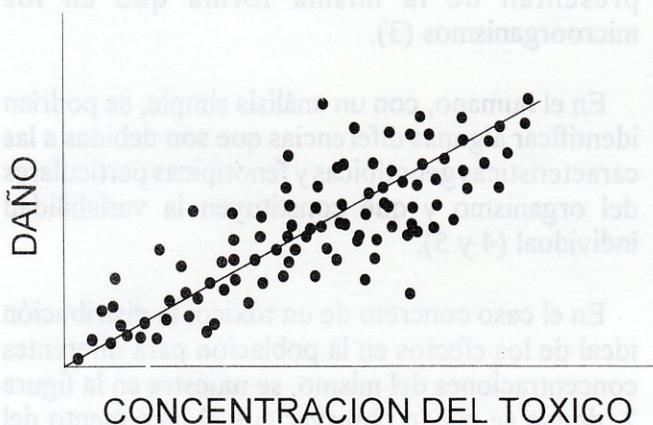
En el caso concreto de un tóxico, la distribución ideal de los efectos en la población para diferentes concentraciones del mismo, se muestra en la figura 2, donde se puede observar que el incremento del daño en el organismo es directamente proporcional al aumento en la concentración del tóxico; sin embargo, se le denomina ideal, ya que cada uno de los integrantes de la población debería de tener una respuesta particular a los efectos del tóxico y distribuirse, por lo menos, con una distribución normal, similar a la presentada en la figura 1.

Si se integra la distribución normal a la población que se muestra en la figura 2, se obtendría como resultado la gráfica de la figura 3, donde ahora se puede definir una nube de puntos alrededor de la línea del comportamiento ideal, que indica que existen desviaciones más o menos importantes del valor central ideal, como se espera para una población con una distribución normal. Es importante



**Figura 2.** Daño según la concentración de un tóxico en un organismo. Se indican todos los puntos experimentales que coinciden con la regresión lineal.

reconocer en esta población a los individuos que caen en los extremos, es decir; individuos que presentan poco o mucho daño para la misma concentración del tóxico.



**Figura 3.** Daño según la concentración de un tóxico en un organismo. Se indican los puntos experimentales representados como una nube alrededor de la regresión lineal.

### SUSCEPTIBILIDAD INDIVIDUAL

Sin embargo, la distribución normal tampoco es la forma real de definir el efecto de la concentración de un tóxico en una población; muy probablemente lo más cercano a la realidad está representado en la figura 4, en la cual se definen operacionalmente, individuos con baja susceptibilidad e individuos con alta susceptibilidad.

Los individuos de ambos grupos se separan lo suficiente entre sí y del grueso de la población, como para poder proponer que tienen características dife-



**Figura 4.** Daño según la concentración de un tóxico en un organismo. Se indican los puntos experimentales representados como una nube alrededor de la regresión lineal y se definen dos regiones: A) grupo con bajas concentraciones del tóxico y alto nivel de daño (alta susceptibilidad) y B) grupo con alta concentración del tóxico y bajo nivel de daño (baja susceptibilidad).

rentes entre sí o incluso que están definiendo dos subpoblaciones. Esto significa que ambos grupos deben estar expresando características tanto genóticas como fenotípicas particulares, como resultado de los procesos de adaptación o de selección y que les confieren ventajas (individuos resistentes) o desventajas (individuos susceptibles) contra la presión evolutiva a la que están siendo sometidos (6).

Este mismo ejemplo puede aplicarse a las enfermedades infecciosas (virales, bacterianas o parasitarias), a las enfermedades metabólicas, a los trastornos nutricionales o a cualquier desequilibrio interno o externo. De forma que en todos ellos, como en el ejemplo del tóxico, se podrían distinguir o identificar con más o menos certeza estos grupos.

La identificación de estos extremos y la aplicación de la estadística epidemiológica, podría ser de amplia utilidad en la clínica para conocer, por ejemplo, la susceptibilidad de los microorganismos a los tratamientos, predecir la virulencia de los patógenos o definir la morbilidad y la mortalidad en el caso de una neoplasia. Esta información también podría ser empleada en el pronóstico de un padecimiento y en la definición de los factores de riesgo. Sin embargo, en muchos de estos análisis estadísticos se trata de definir los extremos y una vez que dan el factor de variación, se consideran como variables intrínsecas no controlables y se les otorga un valor de probabilidad.

Para el investigador en áreas biológicas el análisis de los extremos, aunque estadísticamente podían ser despreciables, puede ser de gran ayuda, ya que el entender los cambios bioquímicos y fisiológicos que representan, permitiría entender cómo un organismo puede resistir mejor a un daño o por el contrario cómo un organismo puede ser más susceptible a ese mismo daño.

El estudio de estas características puede ser útil para: a) Estandarizar pruebas que permitan diagnosticar la susceptibilidad individual. b) Establecer medidas y tratamientos preventivos especiales en el caso de individuos susceptibles. c) Diseñar de manera racional nuevos tratamientos para la enfermedad. d) Mejorar el conocimiento de la enfermedad y de los procesos de adaptación asociados con la misma y e) Conocer las alteraciones de la fisiología de un organismo que permitan comprender mejor la función de una molécula, de una estructura macromolecular, de

un orgánulo, de una célula, de un órgano y finalmente de un sistema.

## CONCLUSION

Todos y cada uno de los puntos enumerados marcan la importancia y la necesidad de definir los extremos para su estudio posterior, más que para eliminarlos estadísticamente. El estudio de estos extremos es una oportunidad que la naturaleza ofrece para entender mejor la bioquímica y la fisiología de un organismo, la adaptación y la evolución de los sistemas y posiblemente la cura a muchos padecimientos. Esta forma de análisis se ha aplicado con mayor frecuencia en los últimos años a diversas enfermedades (virales, bacterianas, neoplásicas y toxicológicas); sin embargo, falta orientar un mayor esfuerzo hacia este enfoque, que si bien no resolverá por sí solo los problemas de los daños al organismo, sí ofrece un panorama alentador en el complejo estudio de las enfermedades y la respuesta de un organismo.

## REFERENCIAS

1. Steel R G D y Torrie J H (1989) Observaciones. En: Bioestadística. 2a Ed, McGraw-Hill Inc USA, pp 7-36.
2. Wolfson J S y Swartz M N (1985) Serum bactericidal activity as a monitor of antibiotic therapy. *N Engl J Med* 312:968-975.
3. Calderón Salinas J V, Hernández Luna C, Maldonado Vega M y Sáenz Romero D (1993) Mechanisms of the toxic effect of lead I Free lead in erythrocyte. *J Exposure Anal Environ Epidemiol* 3:153-164.
4. Guyatt G, Sackett D, Taylor D W, Chong J, Roberts R y Pugsley S (1986) Determining optimal therapy randomized trials in individual patients. *N Engl J Med* 314:889-892.
5. Calderón Salinas J V, Valdez Anaya B, Zúñiga Charles M A y Albores Medina A (1996) Lead exposure in a population of Mexican children. *Hum Exp Toxicol HET-1150* (en prensa).
6. Calderón Salinas J V, Hernández Luna C, Valdez Anaya B, Maldonado Vega M y López Miranda A (1996) Evolution of lead toxicity in a population of children. *Hum Exp Toxicol HET-1151* (en prensa).

## LOUIS PASTEUR 1822 A 1895: LA TEORIA MICROBIANA, LA MEDICINA Y LA CIRUGIA EN EL SIGLO XIX

En la conferencia general de la UNESCO (Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura), celebrada en noviembre de 1993, se decretó el año Pasteur 1995, como un homenaje al francés Louis Pasteur, con motivo del centenario de su muerte y se decidió realizar una serie de actos que permitieran conocer mejor su legado científico y el impacto de sus trabajos en la actualidad.

Considerado como una figura universal, el descubridor de la vacuna contra la rabia ha sido calificado por sus biógrafos como filántropo y moralista, un sabio desinteresado, bienhechor de la humanidad.

El director general de la UNESCO, Federico Mayor Zaragoza, en la ceremonia inaugural proclamó que Pasteur tenía la convicción "de que el principal objetivo de la ciencia era aliviar el sufrimiento humano" y dedicó su vida a demostrarlo.

La obra científica de Pasteur abarca numerosos campos: sus trabajos acerca de la asimetría del ácido tartárico; sus investigaciones sobre las "enfermedades del vino y la cerveza" que le dieron enorme prestigio y que tuvieron tanta importancia para la economía francesa, y sobre todo, sus investigaciones sobre las enfermedades de los animales, entre ellas las del gusano de seda, el carbunco, el cólera de las gallinas y la peripneumonía de los bovinos.

El terrible efecto de la rabia, que siendo un niño tuvo la oportunidad de contemplar en su pueblo natal, había dejado en su ánimo honda huella. Pasteur, aunque no logró aislar el agente productor de la rabia, consigue un posible tratamiento preventivo. En 1885, el niño alsaciano Joseph Meister, mordido en distintas partes por un perro rabioso, fue llevado al laboratorio de Pasteur en demanda de ayuda. Ante los efectos de un cuadro clínico sin esperanzas, Pasteur decide arriesgarse y aplicarle el tratamiento

preventivo que estaba estudiando. Fueron días de zozobra durante los cuales Pasteur no podía dormir ni trabajar. Después de tres meses el sabio triunfa. Anuncia que el niño se ha salvado y que está íntegramente sano.

No podemos tratar con detalle en esta nota todos los descubrimientos e investigaciones que durante la segunda mitad del Siglo XIX realizó este químico y biólogo francés que revolucionaron a la química, la medicina, la cirugía, la higiene, la agricultura y la industria. Por lo tanto al final se presenta una relación de diversas obras, que pueden ayudar a profundizar en el conocimiento de las aportaciones de este investigador.

Podemos afirmar que la microbiología e incluso la medicina moderna comienzan como resultado de las investigaciones de Louis Pasteur. La formación científica de Pasteur como químico no le impidió apreciar las trascendencias biológicas de su trabajo. Ya en 1854, por ejemplo, se encontraba poseído por la idea de que la asimetría molecular se relaciona con el proceso vivo. La expresión "el gran problema de la vida" aparece con frecuencia en sus cartas a sus amigos, a su padre e, igualmente, en sus conferencias y notas. Esta preocupación constante por indagar el fenómeno de la vida tuvo que influirle a la hora de analizar cualquier hecho susceptible de una interpretación vitalista.

En estas líneas nos vamos a referir, especialmente, a la influencia de cómo las teorías microbianas de Pasteur condujeron a cambios definitivos en la medicina y la cirugía que se practicaban a mediados del Siglo XIX.

Es difícil imaginar cómo era la práctica en la cirugía de hace más de 100 años. Aparte del dolor inevitable que se provocaba al paciente, la falta de asepsia era el enemigo más terrible de toda opera-

ción o de cualquier herida. Pocos escapaban a la tortura de heridas supurantes. La septicemia era el flagelo de las salas de operación. Muchas intervenciones no se realizaban por temor a la infección o, todavía peor, a la gangrena.

Son numerosos los escritos de Pasteur sobre el mundo microbiano que revelan su importancia como factor de equilibrio en la superficie del globo y como responsable de enfermedades en animales y el hombre.

En el pasado la principal causa de mortalidad después de cualquier clase de operación fueron las infecciones. De las 13,000 amputaciones que se realizaron en el ejército francés durante la guerra francoprusiana (1870 a 1871), fueron mortales no menos de 10,000.

Las terribles consecuencias de la guerra representaron un estímulo para Pasteur, que así intensificó sus esfuerzos de investigación de los gérmenes destructores, porque los accidentes que se producían en los hospitales causaban un mayor número de víctimas que las que se producían en los campos de batalla. "Una puntada de un alfiler es una puerta por donde entra la muerte, dice Rene Vallery-Radot, yerno de Pasteur. Aquella puerta abierta se ampliaba con ocasión de las operaciones, incluso las de menor importancia. La simple operación de abrir un absceso producía a veces consecuencias tan graves que los cirujanos vacilaban en hacer uso del escalpelo... El verdadero arte del cirujano quedó paralizado por los terribles fracasos de casi todas las operaciones".

Otro cirujano decía a sus alumnos: "piensen ustedes 100 veces antes de realizar una amputación, incluso en los casos que ésta parece ineludible; porque, desgraciadamente, con demasiada frecuencia cuando decidimos hacer una operación, firmamos la sentencia de muerte del paciente". Pasteur sostenía que, contra lo que comúnmente se creía, la infección purulenta no era una enfermedad necesaria ni una consecuencia prescrita por algún mandato divino. Al insistir en el control y en la eliminación de los gérmenes de expansión rápida, Pasteur no sólo aconsejaba el cuidado más escrupuloso al vendar las heridas, sino la esterilización del instrumental, vendaje y de todos los puntos de contacto.

A medida que Pasteur comenzó a frecuentar las salas de los hospitales, se fue convenciendo cada vez más de que la importancia de los microorganismos atmosféricos se había exagerado, y que los portadores más importantes de la infección eran las personas que cuidaban de los enfermos. Insistió sobre este punto de vista en una famosa conferencia que dio ante la Academia de Medicina: "Esta agua, esta esponja, estas gasas con las cuales se lavan o cubren las heridas, depositan gérmenes que tienen el poder de multiplicarse rápidamente en los tejidos y que invariablemente producirán la muerte del enfermo en muy corto tiempo, si los procesos vitales del cuerpo no los contrataca. Pero la resistencia vital es frecuentemente impotente y también a menudo la constitución del herido, su debilidad, su moral y el vendaje inadecuado de la herida oponen una barrera insuficiente a la invasión de estos organismos infinitamente pequeños que sin darse cuenta han sido introducidos en la parte herida. Si tuviera el honor de ser un cirujano impresionado como estoy con los peligros a que está expuesto el enfermo por los microbios que se encuentran en la superficie de todos los objetos, particularmente en los hospitales, no solamente usaría instrumentos completamente limpios, sino que después de haberme limpiado las manos con el mayor cuidado y haberlas sujetado a un rápido flameado, que no las expondría a un inconveniente mayor que percibido por un fumador que pasa un carbón incandescente de una mano a otra, yo sólo usaría gasas, vendas y esponjas expuestas a una temperatura de 130 a 150°C".

Esta memorable declaración ha venido a ser la base de la cirugía aséptica, que intenta prevenir el acceso de los agentes patógenos al campo operatorio, mejor que tratar de matarlos con antisépticos aplicados a los tejidos. Se podría pensar que hacia 1890 la teoría microbiana estaba ya suficientemente establecida para ser innecesarias las advertencias de Pasteur. Lamentablemente, en realidad, la idea de la técnica aséptica era completamente extraña para muchos médicos ilustres.

Pasteur tuvo siempre muchos opositores, pero también distinguidos científicos aceptaron sus teorías, acaso el más eminente fue el escocés Joseph Lister, destacado cirujano e investigador quien a los 33 años desempeñaba la cátedra de cirugía en Glasgow, Escocia, y que estaba familiarizado con el mundo microbiano.

En 1865, Lister discute el problema con el profesor Thomas Anderson, profesor de química de su escuela; éste llama su atención sobre los trabajos que en París está llevando a cabo un investigador con ideas originales llamado Louis Pasteur sobre la fermentación y la putrefacción. Lister, que ya había comprobado que en las heridas ocurría una descomposición y putrefacción de la materia orgánica, desde el primer momento comprendió que aquí estaba la solución a su problema; buscó y consiguió los trabajos de Pasteur. Con esta información el Dr Joseph Lister comprobó que los “hongos” que él había visto repetidas veces en su microscopio cuando examinaba trozos de tejidos gangrenados, eran la causa que corrompía las heridas. Pasteur había demostrado también que estos seres invisibles no se producían espontáneamente como muchos de sus contemporáneos admitían; entonces era inevitable que tenían que ser transportados hasta la herida por el aire, por los instrumentos y las manos del cirujano. Los microbios no eran algo añadido a los tejidos supurados de la herida sino la causa de la supuración. Al enfrentarse a los cirujanos de su tiempo que hablaban del “pus loable” y del “bueno y antiguo hedor quirúrgico”, Pasteur afirma que, precisamente, estas infecciones son las que impiden que la cirugía progrese.

Joseph Lister tomó la iniciativa de purificar los materiales empleados para el vendaje en una fuerte solución de ácido carbónico. Lister le escribió a Pasteur: “ruego a usted se sirva aceptar un folleto que le remito por este mismo correo en el que se describen algunas investigaciones sobre la materia que usted ha contribuido tanto a esclarecer: la teoría de los cambios fermentativos basados en los gérmenes... permítame aprovechar esta oportunidad para dar a usted las gracias más cordiales por haber demostrado con sus brillantes investigaciones la verdad de la teoría de la putrefacción basada en el germen y de tal forma, haberme proporcionado el principio sobre el cual puede desarrollarse únicamente el sistema antiséptico”. Ya algunos años antes en la revista *Lancet* había escrito Lister: “ahora volviendo a cómo la atmósfera produce la descomposición de las sustancias orgánicas, advertimos que sobre este tema, de extraordinaria importancia, han irradiado torrentes de luz los trabajos de Pasteur, que ha demostrado con pruebas absolutamente convincentes que no es el oxígeno del aire, ni ninguno de sus elementos gaseosos a los que el aire debe esta

propiedad, sino que son partículas infinitamente pequeñas que el aire lleva en suspensión, los gérmenes de diversas formas inferiores de vida descubiertas hace mucho tiempo por el microscopio y consideradas como simples factores concurrentes accidentales de la putrefacción, pero que ahora Pasteur ha demostrado que son su causa sustancial”.

Sir William Osler escribe en la introducción del libro *La vida de Pasteur*, de Vallery-Radot, lo siguiente: “partiendo de estos principios se ha desarrollado la cirugía moderna, y todos los aspectos relativos a la infección de heridas, no sólo en relación con las enfermedades quirúrgicas sino con la fiebre puerperal, forman ahora uno de los capítulos más brillantes de la historia de la medicina preventiva”.

El 27 de diciembre de 1892, en ocasión del septuagésimo aniversario de Pasteur, tuvo lugar un solemne jubileo en el aula Magna de la Sorbona, a la que acudieron el presidente de la República Francesa, Sadi Carnot, y delegaciones de instituciones del saber, tanto francesas como extranjeras. Uno de los oradores oficiales dijo que el héroe de aquel día no era simplemente un gran hombre de ciencia, sino uno que había dedicado todas sus fuerzas, su corazón y su genio al servicio de la humanidad.

Se pronunciaron muchos discursos, pero entre todos la nota culminante la dio el destacado Dr Lister, que representaba a las Reales Sociedades de Londres y Edimburgo, quien dijo: “Usted ha levantado el velo que durante siglos ha cubierto las enfermedades infecciosas. Usted ha cambiado el tratamiento de las heridas que eran un problema incierto y con demasiada frecuencia originaban verdaderos desastres, en un arte científico y sin duda benéfico. Sus incansables investigaciones han irradiado una luz vigorosa, que ha iluminado los oscuros campos de la cirugía”. Cuando Lister fue a abrazar a Pasteur muy conmovido, todos los presentes irrumpieron en aclamaciones entusiastas.

Pasteur, imposibilitado por la emoción para hablar y obligado a demostrar su gratitud a través de la voz de su hijo, expresó por última vez en público, que la ciencia traería algún día la felicidad del hombre, “delegados de naciones extranjeras que han venido de tan lejos para darle a Francia una prueba de simpatía; ustedes me traen el más profundo

regocijo que un hombre puede sentir, cuya creencia invencible es que la ciencia y la paz triunfarán sobre la ignorancia y la guerra; que las naciones se unirán no para destruir sino para construir y que el futuro pertenecerá a aquellos que más hayan hecho por la humanidad doliente”.

Al dirigirse a sus estudiantes, recordó la inmensa satisfacción que obtuvo en sus años de asiduo trabajo y expresó su confianza perenne en el poder del método experimental para mejorar la suerte del hombre en la tierra, “jóvenes, tened fe en esos métodos poderosos y seguros, de los cuales no conocemos aún todos los secretos. Y cualquiera que sea vuestra carrera, no os desanime la tristeza de algunas horas que pasan sobre las naciones. Vivid en la serena paz de la biblioteca y los laboratorios”.

Las investigaciones de Pasteur eran ya reconocidas por el mundo científico; pero sin duda lo que le dio mayor notoriedad internacional fueron sus trabajos para obtener una vacuna contra la rabia.

De todas partes del mundo fueron llevadas a París personas mordidas por animales con rabia. Pasteur el 1º de Marzo de 1886 pudo informar a la Academia de Ciencias que de 350 personas tratadas sólo una había muerto.

Los gobiernos de varios países, los municipios y numerosos periódicos se preocuparon de reunir fondos para construir el Instituto en que Pasteur había puesto todas sus esperanzas. El 14 de Diciembre de 1888 se inauguraba y llevaba su nombre.

Al recordar la obra científica de Pasteur no debemos dejar de mencionar a madame Pasteur, la joven Marie Laurent, hija del rector de la Universidad de Estrasburgo, que tenía 22 años cuando se casó y que desempeñó su papel consagrándose a su marido, a los sueños de éste y adaptando su conducta a la meta que él había formulado para su vida. Ella aceptó las muchas limitaciones que representaba el pequeño salario de profesor. Los ingresos adicionales procedentes de premios se destinaban la mayoría de las veces a la compra de equipo científico. Escribía a sus hijos en 1884: “vuestro padre está absorto en sus pensamientos, habla poco, duerme poco, se levanta al amanecer y en pocas palabras continúa la vida que empecé con él hace 35 años”.

La parte tan grande que ella desempeñó en las hazañas del maestro ha sido descrita por Roux, nacido en Confolens en 1853, muerto en París en 1933; alumno de Pasteur, director del Instituto Pasteur en 1904 y célebre por sus trabajos sobre la toxina diftérica y el tratamiento de la difteria, quien estuvo asociado durante 20 años con Pasteur. “Desde los primeros días de su vida en común, madame Pasteur conoció la clase de hombre con quien se había casado. Hizo todo lo posible para protegerle de las diferencias de la existencia, tomando para sí las preocupaciones del hogar, de modo que él pudiera conservar completa libertad de mente para sus investigaciones. Madame Pasteur amó a su esposo hasta el extremo de comprender sus estudios. Durante las noches escribía bajo su dictado, solicitando aclaraciones, pues se interesó positivamente sobre la estructura cristalina o por los virus atenuados. Ella se había percatado de que las ideas se hacen más claras cuando se explican a otros y que no hay nada que conduzca mejor a preparar nuevos experimentos que la descripción de los que acaban de ser realizados. Madame Pasteur fue más que un camarada para su esposo, ella fue su mejor colaboradora”.

Cuando murió en 1910, fue a descansar al lado de su compañero. Debido a que en realidad fue la compañera fiel de la misión humana y divina de Pasteur, resulta adecuado que las palabras latinas *Socia rei humanae atque divinae* quedaran grabadas en su tumba.

La salud de Pasteur era ya muy delicada. Todavía estaba afectado por el ataque de parálisis que sufrió en octubre de 1868 y que superó gracias a su voluntad y al cuidado de su esposa. En 1894 tuvo otro ataque que aumentó su invalidez. La muerte le llegó el 28 de septiembre del siguiente año en Velleneuve L'Elang.

Había nacido en Dale, Francia, el viernes 27 de diciembre de 1822, hijo de Joan Joseph Pasteur, quien participó en las guerras del Imperio y era de oficio curtidor. A la edad de 13 años el joven Louis sólo mostraba inclinación por el dibujo, realizó muy bien unas pinturas al pastel, que todavía se pueden admirar en el Instituto Pasteur en el museo consagrado al sabio.

Su fallecimiento fue un duelo nacional, una multitud acompañó al féretro. La prensa de todos los

países hizo grandes elogios del sabio del que se enorgullece Francia. Ahora, cien años después de su muerte, es obligado reconocer su inmortal grandeza. Es posible que algunos de sus contemporáneos hayan realizado una obra científica más amplia, pero ninguno contribuyó como él, y tan generosamente, a prolongar la vida del hombre y hacer más llevadera su existencia.

En las obras siguientes, se puede encontrar más información sobre la vida y obra de esta persona excepcional: Burdin J C y De Lavergne E (1980) *Las Bacterias*. Fondo de Cultura Económica SA de CV. México, DF. Coleman W (1983) *La biología en el Siglo XIX*. Fondo de Cultura Económica SA de CV. México, DF. Cottler y Jaffee (1956) *Los titanes de la biología, de la medicina y de la ciencia pura*. Editora Ibero-Mexicana. México, DF. De Kruif P

(1978) *Los cazadores de microbios*. Editorial Diana, SA. México, DF. Delaunay A (1966) *Pasteur y la microbiología*. Editorial Diana, SA. México, DF. Dubos R J (1984) *Pasteur*. Salvat Editores, SA. Barcelona, España. Greene J E (1970) *100 grandes científicos*. Editorial Diana, SA. México, DF. Nicolle J (1963) *Luis Pasteur. Maestro de la investigación científica*. Compañía General Fabril Editora, SA. Argentina, Buenos Aires. Truax R (1945) *José Lister, padre de la cirugía*. Editorial Peuser, Argentina, Buenos Aires. Untermeyer L (1975) *Forjadores del mundo moderno*. Biografías Gandesa. México, DF.

Maria Genoveva González-Morán  
Laboratorio de Biología de la Reproducción  
Departamento de Biología  
Facultad de Ciencias  
Universidad Nacional Autónoma de México

## LA REPRODUCIBILIDAD

Al estar platicando con varios amigos respecto a la reproducibilidad experimental, discutíamos sobre su significado e importancia en la biología, así como la sencillez y la superficialidad con que, en ocasiones, nos referimos a ella.

La reproducibilidad es la fiel repetición de un fenómeno cada vez que las condiciones que le den origen se presentan. Esta definición operativa ha provocado que se le incluya en los "dogmas" del método científico, por lo cual ha dado dirección a muchos experimentos y del mismo modo ha puesto en duda muchos resultados experimentales que no pueden reproducirse. Esta nota no pretende eliminar o atenuar el valor de la reproducibilidad como estrategia experimental o como una norma para probar si algo es cierto, sólo se pretende motivar al análisis de este aspecto que, por parecer muy simple, pasa muchas veces por entendido.

Uno de mis amigos, estudioso en ciencias exactas, indicó que la reproducibilidad, tal y como la definimos, es una característica que se ajusta perfectamente a los fenómenos físicos y químicos, mientras que en los biológicos este ajuste es parcial, debido a que la reproducibilidad de un fenómeno de este tipo está seriamente limitada por la complejidad y la variabilidad biológica del sistema.

No tuve más que aceptar lo dinámico, complejo y variable que puede resultar un sistema biológico, al grado de que vino a mi mente aquella idea filosófica de que "nadie se baña en el mismo río dos veces", lo que subraya que al momento del segundo baño, el río y la persona serían substancialmente diferentes. Sin embargo —le dije—, también se argumenta que la gente puede tropezar varias veces con la misma piedra, lo cual significa que una persona puede tener una misma experiencia, casi siempre negativa, repetidas veces y no sólo no aprender a esquivarla, sino que parece buscarla fatídicamente. Esto último indicaría que los fenómenos biológicos muy complejos pueden ser susceptibles de reproducirse.

Con la finalidad de dar un ejemplo de lo anterior y tratando de no emplear los tan trillados análisis de

las experiencias económicas y políticas del país, les di como ejemplo una sencilla descripción de la vida sentimental de uno de mis hermanos, el cual ha sostenido relaciones amorosas con tres mujeres en su vida, lo que no resultaría extraño a no ser por las fabulosas coincidencias que existen en torno a estas relaciones. En principio, las tres muchachas le rompieron el corazón a mi pobre e indefenso hermano, lo cual no es raro, pues conozco gente a la que se lo han roto muchas más veces y ni se quejan.

Sin embargo, las coincidencias en este caso no radican en las situaciones subjetivas, tales como: lo hicieron sufrir, le dolió su abandono, lo engañaron, lo trataban mal, todo lo cual puede pasarle a miles de personas y que además tendríamos serias dificultades para estandarizar su cuantificación. En este caso, las mujeres aludidas tenían características objetivas asombrosamente similares, a saber: 10 años mayores de edad que él, rubias, bien oxigenadas (del pelo), cuerpos exuberantes y siliconizados, gimnastas, viudas, con una niña de 7 años, con dinero, con un carro rojo, con una buena izquierda (constatado por el ojo de mi hermano), con una capacidad de inventar e imaginar cosas que rebasarían con mucho cualquier seminario científico y una actitud sicopatológica que cualquier sicoanalista, mataría por poder estudiar.

Pero las coincidencias no terminan ahí, las tres mujeres estuvieron dispuestas a mantener a mi hermano durante tres años, a cambio de que les aguantara trecientas enfermedades imaginarias (me consta), con sus respectivas consultas a los doctores de la región y por supuesto, una vida social muy activa (dije social).

El colmo de la reproducibilidad no fue otra característica de las tres mujeres, sino los pretextos que mi hermano le argumentó a la familia para mantener dichas relaciones; en todos los casos, a pesar de varios años de diferencia entre ellos, la contestación fue: ¡Es el destino, mamá!

En las tres ocasiones se convocó a junta familiar, donde lo que más le preocupaba a tres de mis hermanos era el que una mujer mantuviera a un

hombre. En las tres ocasiones resulté elegido para extender una reclamación oficial a mi hermano y también en las tres ocasiones terminamos comiendo hamburguesas con el dinero de alguna de las muchachas.

Un simple análisis estadístico de este ejemplo, demostraría que el promedio de estas tres relaciones es muy similar, casi sin desviación estándar y por ello con una reproducibilidad prácticamente absoluta.

Terminé mi ejemplo indicando que el estudioso de la biología está acostumbrado a la complejidad y a la variación biológica, se enfrenta a ellas con estrategias diversas y no sólo ha aprendido a reconocerlas y convivir con ellas, sino que incluso las aprovecha y las usa como parte importante de su investigación, a tal grado que el término reproducción, en biología, significa en sí mismo la variación y la evolución.

El biólogo ha resuelto parcialmente la complejidad, con la disección, el aislamiento de los fenómenos y su posterior integración al sistema. De igual forma ha entendido y definido la variación intrínseca del fenómeno o del sistema, para lo cual ha echado mano de los valores de tendencia central, de los valores de dispersión, de las curvas de normalidad y de las comparaciones estadísticas de poblaciones.

De estos análisis han surgido los valores de normalidad, los cuales nos permiten definir, por ejemplo, que el nivel de la glucosa en la sangre de un adulto normal, en reposo y en ayuno de 12 horas, analizado con la técnica "X", varía entre 80 y 120 mg de glucosa por 100 ml de sangre (mg/%); además sabemos que si se analiza la glucosa en la sangre después de comer, ésta debe de fluctuar entre 140 y 250 mg/%, debido a la variabilidad biológica intrínseca de todos y cada uno de los factores que intervienen en la regulación de la glucosa sanguínea. Estas consideraciones han dado lugar a los llamados "controles" en el trabajo experimental, ya que no se podría contar con valores absolutos de referencia.

Este mismo razonamiento de la biología ha llegado al estudio de fenómenos más complejos y en los cuales la variabilidad biológica puede tener un mayor impacto, como son la psicología, la sociología, la política y la economía. De manera tal, que el ejemplo

de mi hermano, no es visto como un fatídico destino o una terrible coincidencia, sino que es susceptible de cuantificarse y analizarse e incluso ser la base racional de estudios de conducta y de personalidad, además de enseñarnos sobre el establecimiento y desarrollo de las relaciones interpersonales.

Aun el estudio de fenómenos biológicos más simples es de gran complejidad, por ejemplo, la contracción muscular resulta de la combinación de fenómenos físicos, tales como: la fuerza, la elasticidad, la fricción, el deslizamiento y de fenómenos químicos como: la transferencia de energía, la oxidación y reducción de cofactores, la fosforilación y defosforilación de proteínas, por mencionar sólo unos cuantos. Además, se requiere de la interacción coordinada de todos estos fenómenos. Por si fuera poco, cada individuo posee características genotípicas y fenotípicas particulares (tamaño del músculo, cantidad y longitud de miofibrillas, densidad de inervación, cantidad de capilares sanguíneos, grado de oxigenación, respuesta vascular, cantidad de metabolitos, etc), que le permiten definir una función contráctil propia. Todo lo anterior hace que cualquier aproximación para tratar de explicar y reproducir fielmente una contracción, sea una visión suicida para un estudioso de las ciencias exactas. A pesar de todo lo anterior, la contracción muscular es un fenómeno muy simple, si lo comparamos con la circulación o la presión arterial y es un juego de niños si se compara con las complejidades del sueño, los procesos cognoscitivos o la conducta de mi hermano.

La complejidad de un fenómeno lleva implícita también a la variabilidad biológica del sistema, característica que incluye la individualidad de los componentes de un sistema biológico, que puede ser cambiante y en la que se basa la individualidad y la evolución del sistema. A mayor cantidad de componentes de un sistema biológico existen más posibilidades de variabilidad biológica, pues las variabilidades independientes de los componentes del sistema se presentarían, al sumarse o cancelarse, y darían una resultante final también individual. De tal forma que, en principio, los sistemas menos complejos tendrían menor posibilidad de variabilidad biológica y en consecuencia podríamos tener fenómenos más reproducibles. Sin embargo, la suma y cancelación de factores también sucede en los fenómenos biológi-

cos muy complejos, lo que permite, en principio, obtener respuestas biológicas complejas reproducibles, solamente que no son aparentes y están en espera de que el estudio sistemático de las mismas, permita definir sus elementos de influencia (variables controlables y no controlables), los cuales una vez reconocidos y entendidos, permitan que el fenómeno se reproduzca y sea susceptible de intervención experimental.

Con base en lo anterior podríamos, incluso, predecir sobre la siguiente piedra con la que se topará mi hermano. Por cierto, alguien me comentó que

está próximo a casarse, esta será una buena oportunidad para el análisis predictivo de su próxima relación; tal vez el análisis estadístico nos permitiría prevenirlo a él o a su pareja. A mí me permitirá seguir tratando de entender el valor predictivo de la probabilidad y la reproducibilidad en los fenómenos biológicos.

*José Victor Calderón Salinas*  
*Departamento de Bioquímica*

*Centro de Investigación y de Estudios Avanzados*  
*Instituto Politécnico Nacional*

## TE DE ERRATAS

En el artículo "D-aminocidos en péptidos de aminoácidos", de Alberto Huberman Weisman, publicado en el volumen 13, número 1, páginas de la 26 a la 30, correspondiente a Marzo de 1996, la figura de la página 28 contiene dos errores. A continuación se ilustra la figura correcta que hace hincapié en la interconversión estereoespecífica de un residuo L en un D y viceversa.

El Comité Editorial

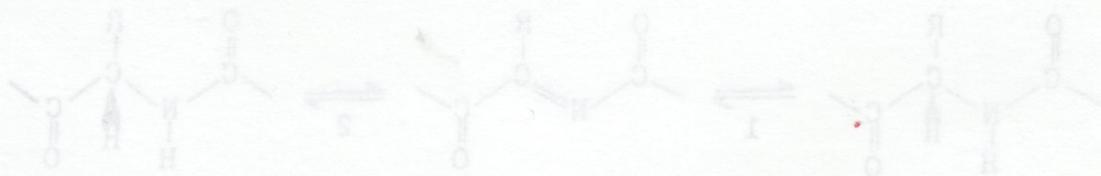


Figura 1. Esquema posible de la α-quimerización de un L-aminocido incorporado a un péptido. 1) Deshidrogenación del residuo L. 2) Hidrogenación estereoespecífica y conversión a un residuo D.

## A LOS LECTORES DEL BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA

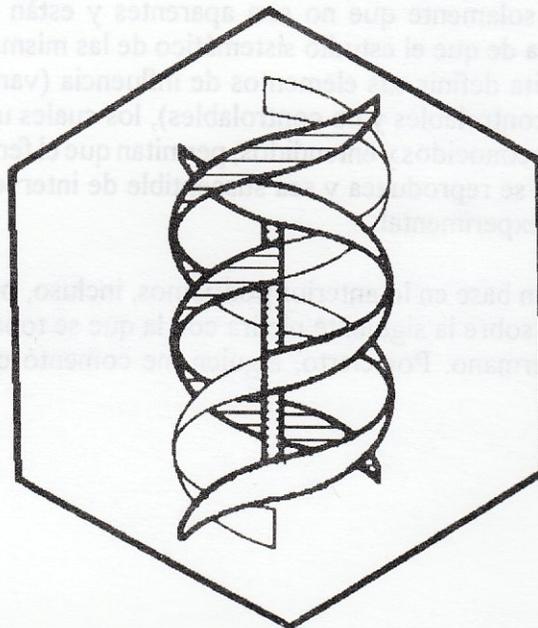
DONATIVO ANUAL 1996

El BEB entra en su décimo quinto 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 \$ 200.00 (docientos pesos) o bien \$20.00 US dólares, que hará posible continuar con la elaboración y distribución del volumen 15 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.

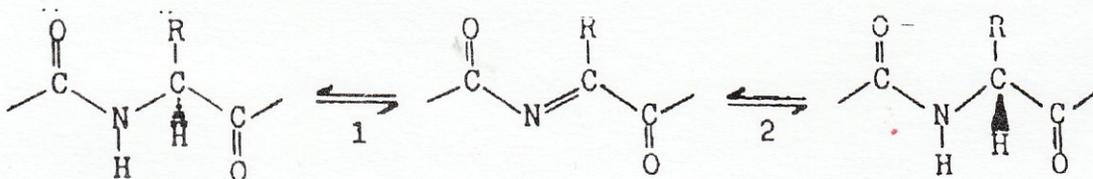
Atentamente  
El Comité Editorial



## FE DE ERRATAS

En el artículo "D-aminoácidos en péptidos de síntesis ribosomal" de Alberto Huberman Wajzman, publicado en el volumen 15, número 1, páginas de la 26 a la 30, correspondiente a Marzo de 1996, la figura de la página 28 contiene dos errores. A continuación se ilustra la figura correcta que hace hincapié en la interconversión estereoespecífica de un residuo L en un D y viceversa.

*El Comité Editorial*



**Figura 1.** Esquema posible de la  $\alpha$ -epimerización de un L-aminoácido incorporado a un péptido. 1) Deshidrogenación del residuo L. 2) Hidrogenación estereoespecífica y conversión a un residuo D.

## CUARTA SEMANA DE EDUCACION BIOQUIMICA

**AVISO:**

**CAMBIA DE SEDE EL CONGRESO**

## LA ASOCIACION MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUIMICA A C

tiene el agrado de invitarlo a su:

# V CONGRESO

**“LA EXPERIENCIA DOCENTE”**

**EN LA CIUDAD DE MEXICO**

Agosto 15 y 16 de 1996

Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México

Palacio de la Escuela de Medicina

Plaza de Santo Domingo, esquina de las Calles de Venezuela y Brasil, Centro Histórico

### INFORMES

Sra Elisa Mora  
Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina,  
Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado  
Postal 70-159, México 04510 DF, Teléfono 623-2170,  
Fax 616-2419.

### COMITE ORGANIZADOR

#### JOSE VICTOR CALDERON SALINAS

Departamento de Bioquímica, Centro de Investigación  
y de Estudios Avanzados, Instituto Politécnico Nacio-  
nal, Teléfono 747-7000 extensión 5225, Fax 747-7083

#### JESUS MANUEL LEON CAZARES

Departamento de Bioenergética, Instituto de Fisiología  
Celular, Universidad Nacional Autónoma de México,  
Teléfono 622-5637, Fax 616-2282

#### ALEJANDRO ZENTELLA DEHESA

Departamento de Bioenergética, Instituto de Fisiología  
Celular, Universidad Nacional Autónoma de México,  
Teléfono 622-5609, Fax 622-5611

### OBJETIVOS

El Congreso de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A C, tiene como objetivo principal el que los profesores de bioquímica y áreas afines, de las licenciaturas

y los posgrados del país, tengan un foro donde puedan compartir sus experiencias docentes en un ambiente crítico y altamente académico.

Este congreso permite crear un foro de discusión entre los especialistas sobre: los planes de estudio, cambios a los mismos y los mecanismos para llevar a buen término estas modificaciones; análisis del proceso enseñanza-aprendizaje y las técnicas de enseñanza empleadas o instrumentadas en las cátedras de bioquímica, comparadas con las usadas en otras áreas; la instrumentación de nuevas prácticas de laboratorio y la manera de optimizar sus beneficios; el análisis crítico de los sistemas de evaluación; así como las perspectivas en la experiencia docente de la bioquímica y áreas relacionadas.

### PARTICIPANTES

A este foro asisten profesores, instructores de laboratorio y estudiantes de bioquímica y áreas afines de diferentes carreras de licenciatura y posgrados del país, así como investigadores de diferentes áreas interesados en la enseñanza, lo cual permite la interacción de diferentes profesionales que participan en el proceso enseñanza-aprendizaje, lo cual propicia un ambiente adecuado para lograr la actualización, la interacción multidisciplinaria y la generación de ideas e inquietudes indispensables para el avance de la práctica docente.

**TEMAS**

El congreso comprenderá la presentación de conferencias magistrales, con temas de actualidad y de interés general a cargo de académicos nacionales y la presentación de trabajos libres desarrollados en forma oral y en cartel, los cuales se agruparán dentro de las siguientes áreas:

1. Proceso enseñanza-aprendizaje.
2. Técnicas de enseñanza y de aprendizaje.
3. Técnicas de evaluación de la enseñanza y del aprendizaje.
4. Evaluación del impacto de la bioquímica en las diferentes carreras.
5. Prácticas de laboratorio (innovación, fundamento y relevancia).
6. Análisis de la estructura curricular.
7. Tópicos selectos de actualización para la enseñanza.

**FORMA DE PAGO**

Las cuotas de inscripción al congreso son de 400.00 pesos moneda nacional e incluyen la renovación de su membresía por el año de 1996, su participación en el congreso y la suscripción al Boletín de Educación Bioquímica por un año. Todos los primeros autores deberán inscribirse, pues los

resúmenes no se aceptarán si no están acompañados de la copia del pago correspondiente.

Para los no socios la cuota es de \$500.00 pesos moneda nacional e incluye su participación en el congreso y la suscripción al Boletín de Educación Bioquímica.

El pago se deberá realizar por medio de un depósito en la cuenta número 1153813-9 de Bancomer a nombre de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica A.C. Se deberá enviar una copia del recibo del depósito al Fax 616-2419 o bien se deberá anexar al resumen o presentarlo al inscribirse, el día del congreso. Se recomienda conservar el comprobante del depósito para posibles aclaraciones.

**REGISTRO DE PARTICIPANTES**

Este se llevará a cabo a partir de la tarde del 14 de agosto.

**INICIO DE ACTIVIDADES**

Las actividades del Congreso se iniciarán el 15 de agosto a las 8 horas.

*El Comité Organizador*

## 4a SEMANA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA XXIII TALLER DE ACTUALIZACIÓN BIOQUÍMICA

### AVISO URGENTE

A los profesores de bioquímica de las universidades del país.

El Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México, informa que por causas de fuerza mayor el XXIII Taller de Actualización Bioquímica, que se realizará durante la "4a SEMANA DE EDUCACION BIOQUIMICA", **cambia de sede** de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León a la Ciudad de México en el Palacio de la Escuela de Medicina, de la Universidad Nacional Autónoma de México, Plaza de Santo Domingo, Centro Histórico. Las fechas del taller serán las mismas, del 12 al 14 de agosto del año en curso.

Para mayores informes, dirigirse a los miembros del Comité Organizador en la Ciudad de México: Dres Federico Martínez Montes, Sara Morales López o Marco Antonio Juárez Oropeza, al Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Fax 616-24-19 o al Apartado Postal 70-159, CP 04510, México D F.

Como en las ocasiones anteriores, las inscripciones se iniciarán el domingo 11 de agosto de las 14:00 a las 19:00 horas, en el Palacio de Medicina. El costo de la inscripción es de \$250.00 (doscientos cincuenta pesos), si lo hacen **antes** del 11 de agosto es de \$200.00 (doscientos pesos). En fecha próxima les haremos llegar por correo la información de los hoteles y la ficha de inscripción. Esperamos su participación.

*El Comité Organizador*



## XXIII TALLER DE ACTUALIZACIÓN BIOQUÍMICA

HORA	LUNES 12 DE AGOSTO	MARTES 13 DE AGOSTO	MIERCOLES 14 DE AGOSTO
Coordinadores			
8:00	Inscripción		
9:00-9:15	Inauguración		
9:15	LOS LÍPIDOS COMO MEDIADORES DE LA FUNCIÓN CELULAR. Dr Bruno Escalante. Depto de Farmacología. CINVESTAV. IPN	EL CAMINO HACIA NUEVOS FARMACOS. Dr. Armando Gómez Puyou. Depto de Bioenergética. Instituto de Fisiología Celular. UNAM.	REGULACIÓN HORMONAL DEL METABOLISMO. Dra. Ma. Eugenia Torres. Depto de Bioquímica. Facultad de Medicina. UNAM.
10:45			
RECESO			
11:00	METABOLISMO DE LOS LÍPIDOS, EN ALGUNAS ENFERMEDADES. Dr. José Zamora M., Depto Endocrinología. INC Dr. Ignacio Chávez. Secretaría de Salud	LA REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GENÉTICA EN PROCARIONTES Y EUCCARIONTES. Dra. Carmen Gómez Eichelmann. Depto de Biología Molecular. Instituto de Investigaciones Biomédicas. UNAM.	MECANISMOS DE ACCIÓN DE MEDIADORES QUÍMICOS. EFECTOS MEMBRANALES Y METABÓLICOS. Dr. Ricardo Tapia I. Depto de Neurofisiología. Instituto de Fisiología Celular. UNAM
12:45			
RECESO			
16:00	UN VISTAZO A INTERNET. Ing. Gustavo Blancas. Facultad de Medicina. UNAM.	Práctica Lipoproteínas. Dr. José Zamora. INC Dr. Ignacio Chávez	PRÁCTICA CON INTERNET Ing. Gustavo Blancas. Facultad de Medicina. UNAM.
19:00			Clausura: Dr. Jaime Mas Oliva

## 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 que se ajusten a los siguientes lineamientos para facilitar la labor editorial:

### I- ARTICULOS DE REVISION

- 1) El artículo deberá enviarse en un disco para computadora, escrito en el procesador de textos "Word 5", con una extensión máxima de 15 cuartillas a doble espacio (27 renglones por cuartilla y 70 caracteres por renglón). Este deberá ir acompañado de 3 impresiones del artículo.
- 2) Se deberá incluir un resumen en idioma Español y uno en Inglés, de más o menos diez renglones, que irán seguidos por conjuntos de tres a seis palabras clave.
- 3) Se aceptará un máximo de quince referencias, tanto específicas como de lecturas recomendadas, numeradas entre paréntesis 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 oficial de la revista abreviado como aparece en el Current Contents, 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:

Fraga C G y Oteiza P I (1995) Vitaminas antioxidantes: Bioquímica, Nutrición y participación en la prevención de ciertas patologías, *Bol Educ Bioq (México)* 14(1):12-17.

Los artículos en libros deberán citarse de la siguiente forma:

Wood K J (1992) Tolerance to alloantigens. En: *The molecular biology of immunosuppression*. Editor: Thomson A W. John Wiley and Sons Ltd, pp 81-104.

Los libros se citarán de acuerdo con este ejemplo y podrán incluir las páginas totales o las consultadas:

Lehninger A L, Nelson D L y Cox M M (1993) *Principles of Biochemistry*. Worth Publishers, New York, NY, USA, p 1013.

- 4) Se aceptarán como máximo seis ilustraciones, figuras más tablas, las cuales deberán estar dibujadas sobre papel albanene con tinta china o bien impresas en laser 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. Las tablas se deberán presentar conforme a alguna de las publicadas en los números de 1995.

- 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.
- 6) Se recomienda revisar los números recientes para familiarizarse con el estilo de la revista.

### II- OTRAS COMUNICACIONES

- 1) El tema de las otras comunicaciones puede ser muy variado; desde resúmenes de artículos interesantes, relevantes o significativos, información de tipo general, avisos de reuniones académicas y cursos, bolsa de trabajo, etc.
- 2) El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de una manera explícita.
- 3) El trabajo deberá enviarse igual que como se especifica en el inciso I - 1.
- 4) Se aceptarán un máximo de dos referencias incluidas entre paréntesis en el texto según el inciso I - 3. En caso de que se juzgue necesario se podrá incluir una figura o una tabla, de acuerdo con las características que se indican en el inciso I - 4.

**Los manuscritos serán leídos por 3 revisores. Las correcciones y sugerencias, así como las pruebas de página se enviarán al primer autor. En caso necesario se recurrirá a revisores externos al Comité Editorial.**

**El disco y las 3 copias de los manuscritos se deberán enviar al Boletín de Educación Bioquímica, Apartado Postal 70 - 281, México 04510, D F o bien a través del corresponsal del BEB en su localidad.**

**CONTENIDO**

**EDITORIAL**

EL QUINTO CONGRESO DE LA  
ASOCIACION MEXICANA DE  
PROFESORES DE BIOQUIMICA, A C,  
CAMBIA DE SEDE  
El Consejo Directivo ..... 55

**ARTICULOS**

RECEPTORES DE INTERLEUCINA-2  
(IL-2) Y SU MECANISMO DE  
TRANSDUCCION INTRACELULAR  
Rocío Alcántara Hernández ..... 57

LA DEFICIENCIA HEREDITARIA DE LA  
CARNITINA PALMITOILTRANSFERASA:  
EXPERIENCIA DOCENTE DE UN  
ESTUDIO MULTIDISCIPLINARIO  
Antonio Liras Martín ..... 62

UN METODO SIMPLE PARA OBTENER  
ANTICUERPOS POLICLONALES:  
ELABORACION DE ANTICUERPOS DE  
GALLINA  
Horacio Reyes Vivas y  
Felipe López Moreno ..... 70

LA SUSCEPTIBILIDAD INDIVIDUAL EN  
EL ESTUDIO DE LAS ENFERMEDADES  
José Víctor Calderón Salinas y  
Araceli Florido Segoviano ..... 74

**OTRAS COMUNICACIONES**

LOUIS PASTEUR 1822 A 1895:  
LA TEORIA MICROBIANA,  
LA MEDICINA Y LA CIRUGIA  
EN EL SIGLO XIX  
María Genoveva González-Morán ..... 78

LA REPRODUCIBILIDAD  
José Víctor Calderón Salinas ..... 83

A LOS LECTORES DEL BOLETIN DE  
EDUCACION BIOQUIMICA.  
DONATIVO ANUAL 1996  
El Comité Editorial ..... 86

FE DE ERRATAS  
El Comité Editorial ..... 86

**AVISOS**

CAMBIA DE SEDE EL CONGRESO  
El Comité Organizador ..... 87

CAMBIA DE SEDE EL TALLER  
El Comité Organizador ..... 89

**INSTRUCCIONES PARA LOS  
COLABORADORES DEL BOLETIN DE  
EDUCACIÓN BIOQUIMICA ..... 91**