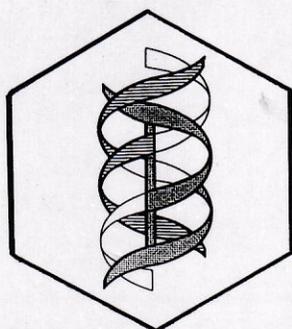


BEB 97

BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA



Órgano de información de la
**ASOCIACIÓN MEXICANA DE
PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A C**

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

COMITÉ EDITORIAL

EDITORES FUNDADORES

ENRIQUE PIÑA GARZA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

GUILLERMO CARVAJAL SANDOVAL

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias
e Instituto Politécnico Nacional

EDITORES

EDMUNDO CHÁVEZ COSÍO

Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez"

ALBERTO HUBERMAN WAJSMAN

Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán"

JESÚS MANUEL LEÓN CÁZARES

Escuela de Gerontología "Heberto Alcázar Montenegro"

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

JOSÉ VÍCTOR CALDERÓN SALINAS

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados
Instituto Politécnico Nacional

COORDINADOR DE CORRESPONSALES

SERGIO SÁNCHEZ ESQUIVEL

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

EDITORES ASOCIADOS

MA TERESA ELIZABETH FLORES RODRÍGUEZ

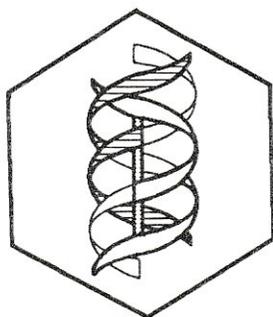
Escuela de Gerontología "Heberto Alcázar Montenegro"

ARACELI FLORIDO SEGOVIANO

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados
Instituto Politécnico Nacional

ELISA MORA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México



Asociación Mexicana de
Profesores de Bioquímica, AC



Facultad de Medicina,
UNAM

BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (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 **PERIÓDICA** (Índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias). Impresa en los talleres Editorial Uno, SA de CV, 1er Retorno de Correggio No 12, México 03720 DF; tiraje 1,500 ejemplares.

EDITORIAL

EL DR JESÚS MANUEL LEÓN CÁZARES: EDITOR EN JEFE DEL BEB DE 1993 A 1996

El Dr Jesús Manuel León Cázares terminó sus funciones como Editor en Jefe del Boletín de Educación Bioquímica con el Número 4 del Volumen 15, quedando en su lugar el Dr José Víctor Calderón Salinas, del Departamento de Bioquímica del CINVESTAV del IPN. Concluyeron así cuatro años al frente del Comité Editorial de nuestro órgano de difusión.

Desde 1982 el Dr León colabora con el BEB como miembro del Comité Editorial. En 1993 fue designado Editor en Jefe sustituyendo a la Dra Yolanda Saldaña que fungía como Coordinadora Editorial. Desde el Número 1, Volumen 12, hasta el Número 4 del Volumen 15, el Dr León coordinó la publicación del BEB. A partir de este número, continuará como un miembro más del Comité Editorial y será el primer corresponsal del BEB con sede en Querétaro, Qro. en donde ahora es profesor de la Escuela de Geriatria y de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Querétaro.

El BEB tiene como objetivo fundamental la publicación de material actualizado, escrito en lengua castellana, que pueda servir de apoyo en la enseñanza de la Bioquímica y áreas afines tanto a nivel de licenciatura como en los posgrados en México y recientemente en otros países de habla hispana. Esta tarea se cristaliza en la publicación de cuatro números al año que deben salir a tiempo, manteniendo un formato y una línea

editorial constantes, que junto con la coordinación de la impresión de cada número representan las principales responsabilidades del Editor en Jefe.

Durante la gestión del Dr León el BEB tuvo una intensa agenda de trabajo que con la colaboración de todo el comité editorial permitió alcanzar dos metas básicas para el bienestar de cualquier publicación periódica. Primero, aumentar el número de trabajos listos para su publicación y segundo, asegurar la publicación puntual de la revista. Para ello, un equipo de trabajo integrado por el Dr León, la Editora Asociada, María Teresa Elizabeth Flores y dos miembros del Comité Editorial, revisó todo el material publicado entre 1993 a 1996. Para valorar la magnitud de este esfuerzo baste con mencionar que de 1993 a 1996 se publicaron 69 artículos, sin contar las notas y editoriales. Durante este periodo el Dr León contribuyó con cinco trabajos y ocho notas, sumando un total de 13 contribuciones publicadas en el BEB. Todo esto sin considerar los trabajos sometidos para publicación que fueron rechazados o enviados a los autores para su corrección en más de una ocasión. Esta parte del trabajo editorial no puede ser apreciada por quien sólo ve el producto final, pero repercute de manera directa en la calidad de la revista.

Es grato saber que en los últimos años hemos recibido un creciente número de contribuciones de

profesores de educación media y alumnos de licenciatura y posgrado. Algunos de estos autores fueron motivados por el mismo Dr León, que los convenció de que la mejor manera de aprender sobre un tema es escribiendo sobre él. De igual manera se ha incrementado el número de contribuciones del extranjero, al grado de que el número anterior estuvo constituido, por primera vez, sólo de artículos escritos por colegas de Venezuela. Estos trabajos se suman a los de autores de Argentina, Cuba, Estados Unidos de América y España que se han publicado previamente.

Hoy el BEB vuelve a publicarse puntualmente, cuenta con suficientes trabajos sometidos a revisión para asegurar su continuidad, está referido en índices nacionales e internacionales de citación y cuenta con contribuciones que tocan temas actualizados de interés general. Es

importante destacar que el BEB se lee fuera de México y que representa una alternativa seria para la publicación de trabajos de divulgación a nivel nacional e internacional. Para que todo esto fuera posible, el Dr León contribuyó con dedicación y ahínco. Que sea éste, un reconocimiento público al trabajo desinteresado de un hombre con una vocación docente ejemplar, convencido de la necesidad de darle vida a un órgano de difusión de la Ciencia. El Comité Editorial del BEB y la Mesa Directiva de la Asociación de Profesores de Bioquímica A.C. le desean lo mejor en sus nuevas actividades, seguros de que continuará dedicado a la labor educativa y a la promoción de la Bioquímica y de la Biología Celular.

Alejandro Zentella Dehesa
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

FUNCIONES ALTERNATIVAS DE LAS HEMOGLOBINAS

Raúl Arredondo-Peter. Department of Biochemistry, University of Nebraska-Lincoln, The Beadle Center Room N200, P.O. Box 880664, Lincoln NE 68588-0664, USA.

RESUMEN

Las hemoglobinas (Hbs) son hemoproteínas que unen reversiblemente el O_2 y lo transportan en los organismos para el metabolismo aerobio. Recientemente se han publicado resultados que sugieren que las Hbs tienen funciones adicionales al transporte y almacén de O_2 . Estas funciones incluyen el transporte de electrones en microorganismos, reacciones de oxigenación en la síntesis y degradación de moléculas orgánicas, unión y transporte de ligandos diferentes al O_2 y CO_2 , y la regulación del metabolismo celular. En esta revisión se describen las funciones alternativas de las Hbs y su posible importancia fisiológica.

PALABRAS CLAVE: Globina, hemoglobina, función, fisiología.

ABSTRACT

Hemoglobins (Hbs) are heme proteins that reversibly bind and transport O_2 in aerobic organisms. Recently, results have been published suggesting that Hbs have additional functions besides transporting and storing O_2 . These functions are: electron transport in microorganisms, oxygenation reactions in the synthesis and degradation of organic molecules, binding and transport of ligands other than O_2 and CO_2 , and regulation of cell metabolism. This review describes the alternative functions of Hbs and their possible physiological significance.

KEYWORDS: Globin, hemoglobin, function, physiology.

INTRODUCCIÓN

El oxígeno, O_2 , constituye cerca del 20 % de los gases de la atmósfera terrestre y es indispensable para el metabolismo de los organismos aerobios porque es el aceptor final de electrones en el proceso de la fosforilación oxidativa. Sin embargo, el O_2 es dañino para las células debido a que genera radicales

libres, como el radical hidroxilo ($\cdot OH$) y el anión superóxido (O_2^-). Estos radicales libres son muy reactivos y desnaturalizan a las biomoléculas en presencia de diversos metales mediante reacciones de oxidación. A lo largo de la evolución, en las células se han desarrollado mecanismos de defensa para evadir el efecto nocivo del O_2 , los cuales abarcan desde la formación de esporas que mantienen un ambiente intracelular anóxico, hasta la síntesis de oxidasas terminales muy activas que tienen una afinidad alta por el O_2 .

En la célula el O_2 no se encuentra en forma libre ya que existen proteínas que lo unen para transportarlo, almacenarlo o incorporarlo en diversas rutas metabólicas. Las hemoglobinas pertenecen a este grupo de proteínas ya que unen reversiblemente el O_2 .

LA MOLECULA DE HEMOGLOBINA

La hemoglobina (Hb) y la mioglobina (Mb) se encuentran entre las proteínas más estudiadas. Su estructura tridimensional se determinó a principios de la década de los años 60s por Max Perutz y John Kendrew. La Hb y la Mb son proteínas que se relacionan estructural y funcionalmente y que pertenecen a la familia de las globinas. La principal diferencia estructural entre ambas proteínas es que la Hb es un tetrámero que se forma por dos subunidades α y dos β ; cada subunidad tiene una masa molecular de unos 15 a 17 kDa, o unos 65 kDa para la Hb multimérica ($\alpha_2\beta_2$). La Mb es una proteína monomérica con una masa molecular de unos 16 a 17 kDa.

Las Hbs se han detectado en procariotes y eucariotes. Aunque existen variaciones en la secuencia de aminoácidos y en el grado de multimerización, la estructura terciaria de los monómeros de Hb se ha conservado a lo largo de la evolución, y al parecer todas las Hbs presentan el

plegamiento del tipo Mb (“myoglobin-like folding”), que consiste en el arreglo particular de ocho hélices alfa que se designan con las letras A a la H (Fig. 1). A lo largo de la presente revisión se utilizará el término Hb para referirse a todas aquellas proteínas que pertenecen a la familia de las globinas.

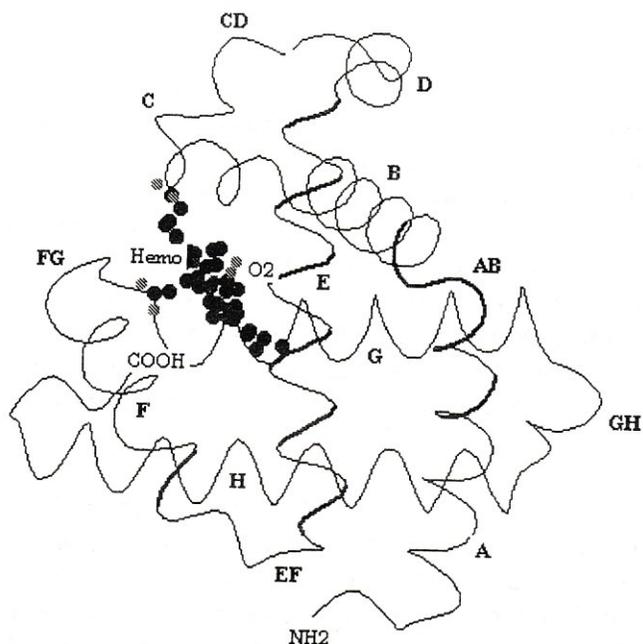


Figura 1. Estructura terciaria de la mioglobina de la esperma de ballena que representa el plegamiento del tipo Mb. Las hélices- α se indican con las letras A a la H, y los círculos en negritas muestran los átomos del grupo hemo.

Todas las Hbs llevan a cabo la misma función al captar, transportar y almacenar el oxígeno en los tejidos. Las Hbs contienen protohemo IX, o hemo, como grupo prostético, el cual coordina a un átomo de Fe. A diferencia de algunos citocromos, en donde el hemo se une covalentemente a la cadena polipeptídica mediante un residuo de Cys, en las Hbs el hemo se une a la apoproteína por medio de interacciones hidrofóbicas entre los grupos vinilo, acetilo y metilo del hemo con los residuos de aminoácido de la apoHb. El Fe está coordinado por los cuatro grupos pirrol del hemo y en la quinta posición por la histidina proximal del polipéptido. Como resultado, la sexta posición del Fe queda libre, lo que le permite captar ligandos, tales como el O_2 , CO_2 y CO, cuando se encuentra en la forma reducida, o ferrosa (Fe^{2+}).

Las Hbs monoméricas, como la Mb, contienen un solo grupo hemo y por lo tanto unen una sola

molécula de O_2 . Las Hbs multiméricas, como la Hb de los vertebrados, contienen un grupo hemo por cada subunidad y pueden captar cuatro moléculas de O_2 . La unión de O_2 a la Hb se lleva a cabo de manera cooperativa debido a la interacción entre las subunidades; esto significa que existe cierta resistencia para la unión de la primera molécula de O_2 , pero una vez que esto sucede, la unión de la segunda molécula presenta menor resistencia y se lleva a cabo con mayor rapidez. A su vez, la tercera y cuarta moléculas de O_2 se unen con mayor facilidad. La cooperatividad de la Hb se puede observar gráficamente, ya que la curva de saturación a diferentes pO_2 es sigmoidea, en cambio la curva de saturación de las Hbs monoméricas es hiperbólica.

En los pulmones la Hb capta el O_2 y lo transporta a los tejidos, en donde lo libera para captar el CO_2 que se produce como resultado del metabolismo celular. La captación o liberación del O_2 y CO_2 por la Hb es modulada por diferentes factores, como la concentración de O_2 y CO_2 , el pH, y la presencia de moléculas orgánicas de bajo peso molecular, como el ácido 2,3-difosfoglicérico (DPG). La Hb en la forma desoxigenada tiene una afinidad alta por los protones, pero no así en la forma oxigenada. Por lo tanto, los protones y el O_2 son antagonistas en la Hb. Esto tiene implicaciones fisiológicas importantes debido a que la acidez en los músculos facilita la liberación del O_2 de la Hb, lo que se conoce como el *efecto Bohr*. El CO_2 también facilita la liberación de O_2 ya que genera protones cuando se disuelve en agua al formar el ion bicarbonato mediante la reacción $CO_2 + H_2O \rightarrow HCO_3^- + H^+$. Una vez en los pulmones, la Hb se reoxigena y los protones se liberan para reaccionar con el ion bicarbonato. Como resultado se forma CO_2 el cual se exhala porque es poco soluble. Otro modulador importante de la actividad de la Hb es el DPG, cuya concentración es alta en el eritrocito, ya que se une a las dos subunidades β de la Hb, lo cual facilita la liberación del O_2 .

La función y el mecanismo de acción de la Hb se han estudiado durante mucho tiempo y se conocen con detalle, pero siempre asociados con la unión reversible al O_2 . Sin embargo, la estructura y las características funcionales de las Hbs varían entre los organismos y las condiciones en las que se desarrollan (1). Así, existen Hbs gigantes que de varios millones de Daltones de masa molecular que

resultan de la agregación de un gran número de subunidades, tal como la Hb de la lombriz de tierra *Lumbricus terrestris*, o las Hbs de bacterias que están fusionadas a polipéptidos con dominios que contienen flavina como grupo prostético. También existen diferencias en la afinidad por el O₂ (Tabla I), y al parecer las Hbs de los organismos que viven en condiciones de microaerobiosis tienen la mayor afinidad por el O₂. Tal es el caso de las Hbs de los nódulos de las plantas fijadoras del nitrógeno, o de la Hb del nemátodo *Ascaris lumbricoides*.

Los ejemplos anteriores son una muestra de la diversidad que existe en la familia de las globinas. Durante los últimos años se han estudiado con detalle diversas Hbs y se han obtenido resultados que sugieren que estas proteínas tienen funciones adicionales a la captación y al transporte de O₂. Aunque todavía no existen datos experimentales que permitan asignar definitivamente otras funciones a las Hbs, a continuación se describen algunas evidencias experimentales que sugieren que las Hbs tienen funciones adicionales al transporte de O₂.

POSIBLES FUNCIONES ADICIONALES DE LAS HEMOGLOBINAS

La Función de las Hemoglobinas Bacterianas. En las bacterias se han detectado dos clases de Hbs: a) las Hbs del tipo *Vitreoscilla*, que tienen un solo dominio que une al grupo hemo, cuyo plegamiento es del tipo Mb, y que se han aislado a partir de la bacteria ferrogénica *Vitreoscilla* y de la cianobacteria

Nostoc commune; y b) las flavoHbs, que contienen el dominio de unión al hemo en el extremo amino fusionado a un polipéptido con un dominio de unión al grupo flavina, y que se han aislado a partir de *Escherichia coli*, *Erwinia chrysanthemi*, *Bacillus subtilis* y *Alcaligenes eutrophus*.

La Hb de *Vitreoscilla* es un dímero formado por dos subunidades idénticas de masa molecular de 16 kDa. Esta Hb se sintetiza en grandes cantidades cuando *Vitreoscilla* crece en condiciones hipóxicas. El gen *vgb*, que codifica para la Hb de *Vitreoscilla*, y su región promotora se clonaron y se transformaron en *E. coli*, y se observó que el promotor se activa cuando la concentración de O₂ disminuye en el medio de crecimiento. El análisis de la secuencia del promotor del gen *vgb* mostró la existencia de un sitio de unión para Fnr (de "fumarate/nitrite respiration"), que es un activador de la transcripción que funciona en respuesta a la concentración de O₂. Estos datos sugieren que la concentración de O₂ regula la expresión del gen *vgb*, probablemente a través de un activador del tipo Fnr (2).

El rendimiento celular de cepas de *E. coli* que expresan el gen *vgb* es mayor que el rendimiento de las cepas del tipo silvestre. El análisis detallado del metabolismo en ambas cepas mostró que la presencia de la Hb de *Vitreoscilla* favorece la ruta de las pentosas fosfato, y que disminuye la ruta Embden-Meyerhoff-Parnas y el ciclo de los ácidos tricarbónicos. Es probable que el cambio metabólico

TABLA I

CONSTANTES CINÉTICAS (k_{on} y k_{off}) Y AFINIDAD POR EL OXÍGENO (K_{dis}) DE ALGUNAS HEMOGLOBINAS MONOMÉRICAS. Tomado de (15).

| PROTEÍNA | k_{on}^* (mM ⁻¹ s ⁻¹) | $k_{off}^{\#}$ (mM ⁻¹ s ⁻¹) | K_{dis}^{\S} (nM) |
|----------------------------------------|---------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|------------------------|
| Hb perientérica de <i>Ascaris</i> | 1.5 | 0.004 | 2.7 |
| Leghemoglobina _a de la soya | 120 | 5.6 | 47 |
| Mb de la esperma de ballena | 19 | 10 | 526 |
| HbIII de <i>Chironomus</i> | 300 | 219 | 727 |
| HbI de <i>Glycera</i> | 190 | 2800 | 14,700 |

* k_{on} es la constante de asociación del O₂ a la Hb: Hb + O₂ → HbO₂.

[#] k_{off} es la constante de disociación del O₂ de la Hb: HbO₂ → Hb + O₂.

[§] K_{dis} es la constante de afinidad de la Hb por el O₂: $K_{dis} = k_{off}/k_{on}$.

se deba al aumento en las condiciones oxidantes de la célula cuando la Hb se encuentra en altas concentraciones, ya que se encontró que la proporción NADH:NAD⁺ en la cepa que expresa el gen *vgb* es menor que en la cepa silvestre (3).

Al expresar el gen *vgb* en *E. coli* y al analizar la localización de la Hb recombinante, Koshla y Bailey (4) encontraron que la Hb de *Vitreoscilla* se exporta parcialmente al espacio periplásmico, lo que sugirió a estos autores que la Hb periplásmica facilita la difusión de O₂ a las oxidasas terminales que se localizan en la membrana interna de la bacteria. Dikshit *et al.* (5) estudiaron el efecto de la expresión del gen *vgb* en cepas mutantes de *E. coli* que carecen de la actividad de los citocromos *o* y *d* y que, por lo tanto, son incapaces de crecer en el medio aerobio que contiene succinato o lactato. Las cepas mutantes que se transformaron con el plásmido que contiene al gen *vgb* pudieron crecer en el medio que contenía succinato o lactato, lo que mostró que la insuficiencia respiratoria se revirtió en las cepas mutantes. Con base en estos resultados, los autores sugirieron que la Hb de *Vitreoscilla* puede funcionar como una oxidasa terminal alternativa.

Escherichia coli y otras enterobacterias contienen flavoHbs con dominios para los grupos hemo y flavina. La estructura primaria del dominio Hb de las flavoHbs contiene residuos que están conservados en las Hbs de otras especies de procariotes y eucariotes. La estructura tridimensional de la flavoHb de *A. eutrophus* muestra que el dominio Hb en el extremo amino tiene el plegamiento del tipo Mb (Fig. 2) (6).

Al igual que la Hb de *Vitreoscilla*, la flavoHb de *E. coli* se localiza en el citoplasma y se exporta parcialmente al periplasma en cepas de *E. coli* que contienen copias múltiples del gen *hmp*, que codifica para la flavoHb de *E. coli*. Sin embargo, la holoproteína se detectó solamente en el citoplasma y la apoproteína en el periplasma. Aunque se desconoce la importancia fisiológica de la existencia de la apoflavoHb en el periplasma, Vasudevan *et al.* (7) sugieren que éste podría ser un mecanismo de protección al daño oxidativo que causa el hemo libre.

Cooper *et al.* (8) estudiaron la interacción entre los grupos FAD y hemo de la flavoHb de *E. coli*. El grupo FAD recibe un electrón del NAD(P)H, el cual

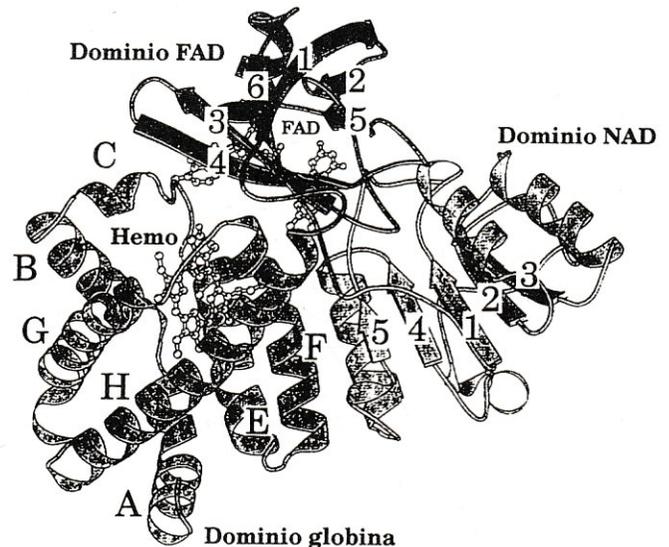


Figura 2. Modelo tridimensional que representa la estructura terciaria de la flavohemoglobina de *A. eutrophus*. Las hélices- α (espirales) del dominio globina se indican con las letras A a la H, y las cadenas β (flechas) de los dominios FAD y NAD se indican con números. Tomado de (6).

transfiere al grupo hemo. Se cree que esta transferencia es un mecanismo que mantiene al Fe del hemo en la forma ferrosa, y oxigenada cuando existe O₂ disponible. Debido a que durante este proceso se transfiere un solo electrón, el FAD se mantiene en la forma oxidada cuando el hemo está ligado al O₂. Por lo tanto el potencial redox del FAD es sensible a la concentración de O₂. Cooper *et al.* (8) especulan que la actividad diaforasa de la flavoHb de *E. coli* puede ser un sensor de la proporción NAD(P)H:NAD(P) y de la concentración interna de O₂, lo cual puede estar relacionado con la regulación de los genes que se activan en condiciones de anaerobiosis.

Alcaligenes eutrophus es una bacteria desnitrificadora que contiene una flavoHb y que, en condiciones de anaerobiosis, utiliza nitrato como aceptor final de electrones para reducirlo a dinitrógeno. La síntesis de la flavoHb de *A. eutrophus* aumenta unas 20 veces cuando la bacteria crece en concentraciones bajas de O₂. El análisis de mutantes de *A. eutrophus* que carecen del gene *fhp*, que codifica la flavoHb, mostró que en estas células no se acumula óxido nítrico, el cual es un intermediario en la reducción de óxido nítrico a dinitrógeno. Esta característica se revirtió en las cepas que fueron capaces de sintetizar la flavoHb. Aunque se desconocen los detalles, se ha propuesto que la flavoHb de *A. eutrophus* tiene actividad

de óxido nítrico reductasa y que produce óxido nítrico (6).

Recientemente se cristalizó y se determinó la estructura terciaria de la flavoHb de *A. eutrophus* (Fig. 2) (6). El hemo y el FAD de la molécula se encuentran a una distancia aproximada de 6.3 Å en un ambiente polar, por lo que se cree que la transferencia de electrones $\text{FAD} \rightarrow \text{hemo}$ sucede directamente, o por medio de una molécula de agua. A diferencia de otras globinas, el residuo His85, que interactúa con el Fe del hemo, está rotado unos 90° lo que le permite interactuar con el residuo Glu137. A su vez, el residuo Glu137 forma un enlace de hidrógeno fuerte con el residuo Tir95, el cual está conservado en las flavoHbs. Se cree que la interacción Fe-His-Glu-Tir puede modular el potencial redox del Fe y permitir a la Hb funcionar como una reductasa.

Reacciones de Oxigenación y Unión de Moléculas Orgánicas. El nemátodo intestinal *Ascaris lumbricoides* sintetiza una Hb perientérica que tiene una afinidad muy alta por el O_2 (Tabla I). La saturación media de esta Hb sucede cuando la $p\text{O}_2$ es 0.001 mm de Hg, en comparación con 25 mm de Hg que requiere la Hb de humano, lo que significa una diferencia de 3.5 órdenes de magnitud. La alta afinidad de la Hb de *Ascaris* por el O_2 resulta del bajo valor de la constante de liberación (K_{off}) del O_2 . Al vacío, la HbO_2 de *Ascaris* libera el O_2 en unos cuantos minutos, mientras que la HbO_2 humana libera el O_2 en milisegundos. Esto ha llevado a pensar que es poco probable que la Hb de *Ascaris* funcione como transportador de O_2 en los tejidos del gusano (9).

Sherman *et al.* (9) observaron que existe una molécula orgánica de bajo tamaño molecular que co-purifica con la Hb de *Ascaris*. Los análisis por espectroscopía de masas mostraron que esta molécula corresponde al escualeno. Este descubrimiento resultó de mucho interés ya que el escualeno es un intermediario en la síntesis del esteroles (Fig. 3). Los huevos de *Ascaris* contienen hasta 2.4 % del peso seco en esteroles, el cual es necesario para la síntesis de membranas durante el desarrollo de las larvas. La síntesis del esteroles requiere de la epoxidación del escualeno, en la que participan O_2 y una ferrihemoproteína reductasa dependiente de NADPH. Al utilizar un ensayo de reducción del citocromo *c*, Sherman *et al.* lograron detectar la actividad de

reductasa en la Hb de *Ascaris*. Aunque estos autores no obtuvieron epoxidación del escualeno al utilizar extractos de *Ascaris* ya que, según ellos mismos, tal vez las condiciones del ensayo no fueron las óptimas, las evidencias anteriores sugieren que la función de la Hb en *Ascaris* es fijar y almacenar el O_2 del intestino en donde es limitante y, probablemente, facilitar la síntesis del esteroles.

Los trabajos de diversos autores también muestran que las Hbs unen moléculas orgánicas de bajo

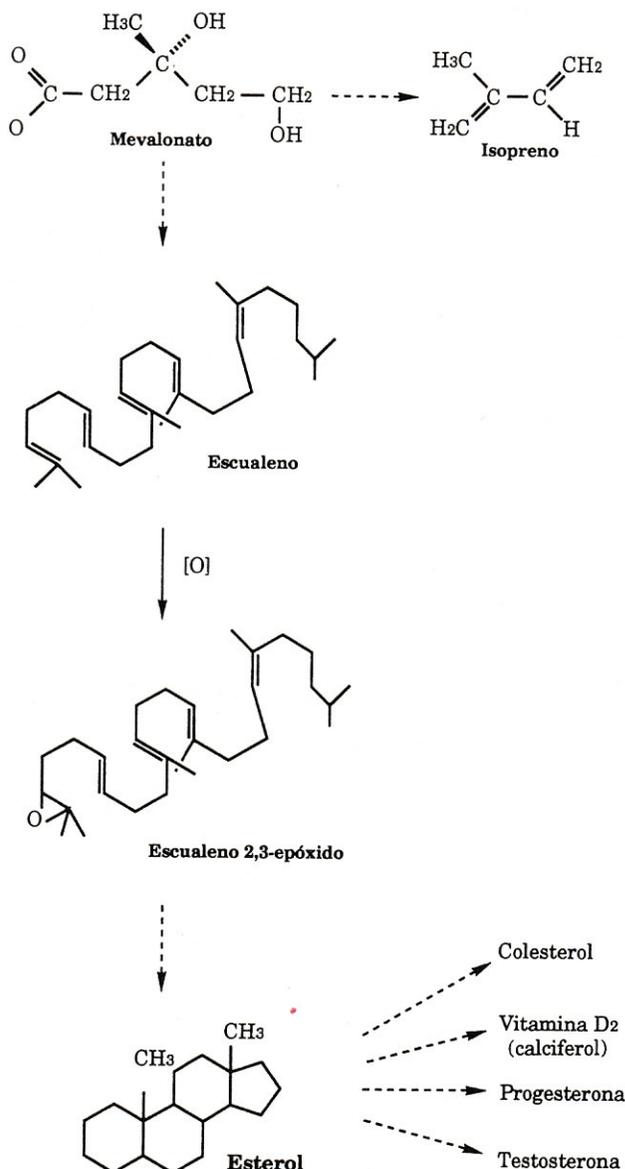


Figura 3. Síntesis del esteroles a partir del mevalonato y del escualeno. Las flechas punteadas indican que existe una serie de reacciones intermedias entre el precursor y el producto. La epoxidación del escualeno en escualeno 2,3-epóxido se lleva a cabo por la actividad de la enzima escualeno monooxigenasa.

tamaño molecular. Götz *et al.* (10) mostraron que la Mb de la molleja de gallina une ácidos grasos, preferencialmente ácidos grasos insaturados, tal como los ácidos oleico y palmítico. La unión de los ácidos grasos es mayor cuando la Mb está oxigenada. Con base en estos resultados, estos autores proponen que la Mb del músculo de esta gallina transporta hacia la mitocondria O_2 y ácidos grasos insaturados.

Óxido Nítrico y Hemoglobina. La Hb puede unir óxido nítrico, NO, cuando se encuentra en la forma ferrosa. El NO es una molécula diatómica que es potencialmente tóxica por su reactividad con las metaloproteínas, y que ha recibido mucha atención durante los últimos años (11). En la estructura del NO, el átomo de nitrógeno aporta siete electrones y el átomo de oxígeno aporta ocho, lo que significa que existe un electrón libre (esta condición se conoce como paramagnetismo) que le permite aparearse con otros átomos o moléculas que contienen electrones libres, tal como el Fe de las hemoproteínas. En los organismos el NO se produce mediante la reducción de nitritos por la enzima nitrito reductasa, o por la actividad de la NO sintetasa que lleva a cabo la siguiente reacción: $\text{arginina} + O_2 + \text{NADPH} \rightarrow \text{citrulina} + \text{NADP} + \text{NO}$. La importancia del NO en el organismo radica en su efecto al regular la presión sanguínea, y funcionar como agente citotóxico o como mensajero en el sistema nervioso. Al parecer el efecto que se atribuye al NO se debe a que reacciona con el Fe de la guanilato ciclasa, que es una hemoproteína que sintetiza el GMPC, el cual es un mensajero intracelular que participa en la activación o inactivación de grupos de genes.

El NO reacciona con el grupo tiol, -SH, para formar S-nitrosotioles, RSNOs. Se cree que la formación de RSNOs entre el NO y los residuos de Cis es una señal similar a la fosforilación de diversas proteínas. Las subunidades β de la Hb de mamíferos contienen un residuo Cis y Jia *et al.* (12) encontraron que el NO reacciona con esta Cis para formar S-nitrosocisteína. El NO oxida a la Hb cuando ésta se encuentra en la forma oxigenada para formar metHb, sin embargo, esto no sucede cuando el NO reacciona con la Cis de la subunidad β . Jia *et al.* (12) observaron que la S-nitrosilación es más rápida cuando la Hb está oxigenada, y que la desoxigenación favorece la liberación del NO. Por lo tanto, la unión y liberación

del O_2 del hemo influye en la estabilidad de RSNOs, lo que sugiere que el O_2 es un efector alostérico en la S-nitrosilación de la Hb. Por lo tanto, estos autores sugieren que la SNO-Hb funciona como donador de NO en el tejido sanguíneo.

Unión de la Hemoglobina y Enzimas Glucolíticas a Proteínas de la Membrana del Eritrocito. La membrana del eritrocito contiene numerosas copias de una proteína integral que se conoce como "banda 3", o CDB3. Esta proteína integral es un canal iónico de masa molecular cercana a los 93 kDa que forma un dímero en la forma activa. CDB3 contiene dos dominios: un fragmento transmembranal de unos 50 kDa que forma el canal iónico, y un fragmento citoplásmico de unos 43 kDa que tiene funciones moduladoras. El dominio citoplásmico puede unir a la Hb proteínas del citoesqueleto y enzimas glucolíticas, tales como la aldolasa, fosfofructocinasa, gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa y lactato deshidrogenasa. La unión de las enzimas glucolíticas a CDB3 resulta de particular interés debido a que dicha unión disminuye drásticamente la actividad de estas enzimas y, consecuentemente, la glucólisis (en 13).

La unión a CDB3 depende del estado en que se encuentra la Hb. La desoxi y oxiHb tienen una afinidad alta y baja por CDB3, respectivamente. Mediante el uso de péptidos sintéticos se determinó que los residuos 1 a 23 del extremo amino del dominio citoplásmico de CDB3 fijan el amino terminal de las cadenas β de la Hb. El análisis cristalográfico del complejo Hb-fragmento amino terminal de CDB3 mostró que el fragmento ácido del dominio citoplásmico de CDB3 se une a la cavidad de la desoxiHb donde se une el PDG. Esta cavidad se obstruye durante la oxigenación de la Hb, lo que resulta en la disolución del complejo CDB3-Hb (14).

Es probable que la unión de proteínas a CDB3 module el transporte de iones a través de la membrana y que ello regule el metabolismo del eritrocito. Por lo tanto, cuando la concentración de O_2 es alta la Hb se encuentra predominantemente en la forma oxigenada, la cual tiene una afinidad baja por CDB3. Esta condición permite la unión de las enzimas glucolíticas a CDB3, y como resultado disminuye el nivel de la actividad glucolítica. Se cree que bajo estas condiciones la glucosa 6-fosfato se metaboliza

mediante la ruta de las pentosas fosfato para generar NADPH el cual, entre otras cosas, es importante para mantener las condiciones reductoras dentro de la célula. En cambio, cuando la concentración de O_2 disminuye, la Hb se desoxigena y se une a CDB3, lo que libera a las enzimas glucolíticas para restablecer los niveles normales de glucólisis y la producción de ATP y DPG, este último mediante el ciclo de Rapoport y Luebering (en 13).

Otras Funciones. Giardina *et al.* (13) en una revisión reciente discuten diversas funciones de la Hb de vertebrados, algunas de las cuales se describen brevemente a continuación.

Actividad de monooxigenasa. Se ha encontrado que en la placenta de humano la Hb tiene actividad de monooxigenasa que es similar al citocromo P-450. En fracciones que se obtuvieron a partir de eritrocitos se observó que la actividad total de monooxigenasa es proporcional a la concentración de oxiHb, y que la actividad se pierde cuando la Hb se oxida a metHb.

Actividad de los productos de degradación de la Hb. Los catabolitos de la Hb tienen diversos efectos fisiológicos en el organismo. El péptido en la posición 35 a 37 de la cadena β de la Hb de bovino tiene actividad similar a los opioides. A este péptido, y a los péptidos correspondientes de las cadenas β , γ , δ y ϵ de la Hb de humano, se les da el nombre de hemorfinas, las cuales tienen una vida media de unos 60 minutos.

El CO es otro producto del catabolismo de la Hb, que resulta de la degradación del hemo a biliverdina por la actividad de la enzima hemo oxigenasa. Se ha sugerido que concentraciones bajas de CO modulan el tono vascular mediante la activación de la guanilato ciclasa.

Envejecimiento del eritrocito. El eritrocito contiene un antígeno de senescencia que resulta de la modificación del dominio externo de CDB3. Las evidencias sugieren que la oxidación y desnaturalización de la Hb induce dicha modificación y que favorece la formación de agregados de CDB3, los cuales son el sitio de unión de autoanticuerpos que destruyen a las células senescentes.

CONCLUSIONES

En los párrafos anteriores se describen diversas funciones que se atribuyen a las Hbs, además de la clásica función de unión y transporte de O_2 . La mayoría de las funciones alternativas se derivan de la capacidad de la molécula de Hb para unir reversiblemente el O_2 . A la fecha, los datos resultan sugerentes, sin embargo, es necesario obtener resultados experimentales que permitan asegurar inequívocamente que la Hb puede llevar a cabo otras funciones. Esto permitirá comprender mejor la función de esta proteína en el metabolismo celular y en el funcionamiento de los organismos aerobios.

AGRADECIMIENTOS

El autor agradece el apoyo por parte de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico-UNAM (DGAPA-UNAM) y del CONACYT para realizar una estancia postdoctoral en la Universidad de Nebraska, EUA.

REFERENCIAS

1. Vinogradov SN, Waltz DA, Pohajdak B, Moens L, Kapp OH, Suzuki T y Trotman CNA (1993) Adventitious variability? The amino acid sequences of nonvertebrate globins. *Comp Biochem Physiol* 106B: 1-26.
2. Joshi M y Dikshit KL (1994) Oxygen dependent regulation of *Vitreoscilla* globin gene: evidence for positive regulation by FNR. *Biochem Biophys Res Comm* 202(1): 535-542.
3. Tsai PS, Nageli M y Bailey JE (1996) Intracellular expression of *Vitreoscilla* hemoglobin modifies microaerobic *Escherichia coli* metabolism through elevated concentration and specific activity of cytochrome *o*. *Biotechnol Bioengin* 49: 151-160.
4. Koshla C y Bailey JE (1989) Evidence for partial export of *Vitreoscilla* hemoglobin into the periplasmic space in *Escherichia coli*: Implications for protein function. *J Mol Biol* 210: 79-89.
5. Dikshit RP, Dikshit KL, Liu Y y Webster DA (1992) The bacterial hemoglobin from *Vitreoscilla* can support the aerobic growth of *Escherichia coli* lacking terminal oxidases. *Arch Biochem Biophys* 293: 241-245.
6. Ermler U, Siddiqui RA, Cramm R y Friedrich B (1995) Crystal structure of the flavohemoglobin from *Alcaligenes eutrophus* at 1.75 Å resolution. *EMBO J* 14: 6067-6077.

7. Vasudevan SG, Tang P, Dixon NE y Poole RK (1995) Distribution of the flavohaemoglobin, HMP, between periplasm and cytoplasm in *Escherichia coli*. FEMS Microbiol Lett 125: 219-224.
8. Cooper CE, Ioannidis N, D'mello R y Poole RK (1994) Haem, flavin and oxygen interactions in HMP, a flavohaemoglobin from *Escherichia coli*. Biochem Soc Trans 22: 709-713.
9. Goldberg DE (1995) The enigmatic oxygen-avid hemoglobin of *Ascaris*. BioEssays 17(2): 177-182.
10. Götz FM, Hertel M y Groschel-Stewart U (1994) Fatty acid binding of myoglobin depends on its oxygenation. Biol Chem Hoppe-Seyler 375: 387-392.
11. Lancaster JJR (1992) Nitric oxide in cells. Am Scientist 80: 248-259.
12. Jia L, Bonaventura C, Bonaventura J y Stamler, JS (1996) S-nitrosohaemoglobin: a dynamic activity of blood involved in vascular control. Science 380: 221-226.
13. Giardina B, Messana I, Scatena R y Castagnola M (1995) The multiple functions of hemoglobin. Crit Rev Biochem Mol Biol 30(3): 165-196.
14. Low PS (1986) Structure and function of the cytoplasmic domain of band 3: center of erythrocyte membrane-peripheral protein interactions. Biochim Biophys Acta 864: 145-167.
15. Appleby CA (1992) The origin and functions of haemoglobin in plants. Sci Progress 76: 365-398.

A 35 AÑOS DEL DESCUBRIMIENTO DE LAS AFLATOXINAS

Carlos Alberto Ponce Leoporto, Araceli Florido Segoviano, Carmen Borrego López y José Víctor Calderón Salinas.
Departamento de Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Apartado Postal 14-740, México
07000 DF. México.

RESUMEN

En esta revisión se resumen los avances en el conocimiento de las aflatoxinas y sus efectos tóxicos en animales y humanos, desde su descubrimiento y se destaca como uno de los innumerables problemas toxicológicos que no por ser poco conocidos resultan ser menos importantes. Tales problemas pasan inadvertidos no sólo por la falta de un diagnóstico adecuado que resulta del desconocimiento absoluto y de la similitud con otros padecimientos o por la falta de pruebas lo suficientemente sensibles, sino también, por la ausencia de evaluaciones epidemiológicas pertinentes y cuyo conocimiento permitiría entender y enfrentar eficientemente, problemas toxicológicos similares.

PALABRAS CLAVE: aflatoxinas, aflatoxicosis, *aspergillus*, cirrosis, cáncer hepático, estrés oxidativo

ABSTRACT

Here we review the advances in the knowledge of aflatoxins and their toxic effects in animals and humans since their discovery and show the relevance of aflatoxicoses as a considerable toxicologic problem, which, although not well known, is not less important. Many similar toxicologic problems are undetected due to an inadequate diagnosis that results from the lack of knowledge, its apparent resemblance to other diseases, the absence of specific and sensitive tests and the absence of adequate epidemiologic studies. Advances in these areas could provide powerful tools to understand and resolve similar toxicologic problems.

KEYWORDS: aflatoxins, aflatoxicoses, *aspergillus*, cirrhosis, hepatic cancer, oxidative stress

INTRODUCCIÓN

Las aflatoxinas son un grupo de sustancias producidas por los hongos del género *Aspergillus*, básicamente

por las especies *flavus* y *parasiticus*. Fueron descubiertas y clasificadas como micotoxinas en Inglaterra a principios de 1960, a raíz de la muerte masiva de pavos, causada por la entonces desconocida aflatoxicosis, que originó una gran crisis económica en la avicultura de ese país.

El problema económico debido a las aflatoxinas llamó rápidamente la atención de instancias gubernamentales, económicas, administrativas, legales y por supuesto de los centros de investigación; esto dio origen al desarrollo de investigaciones en la búsqueda del agente causal de la muerte de las aves. En menos de un año se llegó a la conclusión de que el problema se encontraba en las sustancias tóxicas hidrofóbicas contenidas en el alimento, y en menos de dos años de iniciada la investigación, se identificó que el agente causal era una toxina; casi simultáneamente se reconoció a los hongos como los productores de la misma. Sin embargo, el conocimiento de los daños producidos a las plantas, a los animales y al humano, data de siglos atrás, antes de que se hubiera identificado a las toxinas como el agente causal.

Estos hallazgos cambiaron radicalmente la forma de estudiar los daños que los hongos pueden causar a los organismos vivos y no sólo dieron origen al concepto de micotoxina, sino que permitieron sentar las bases para el desarrollo de la micotoxicología. Este conocimiento condujo al descubrimiento de muchas otras micotoxinas; además, se inició de manera acelerada la definición de los mecanismos de acción, la patogenia, la historia natural de la enfermedad, la fisiopatología y las medidas epidemiológicas de prevención, diagnóstico y tratamiento de las enfermedades causadas por las micotoxinas (micotoxicosis). Los experimentos en animales y posteriormente la epidemiología han mostrado que las aflatoxinas pueden enfermar a

otras especies animales y en el humano causan hepatitis y cáncer hepático (1).

LAS AFLATOXINAS

El nombre de AFLATOXINA (AF) deriva de la "A" de *Aspergillus*, género del hongo que la produce; de la "FLA" de *flavus*, por ser la primera especie en la que se encontró, y de "TOXINA", por su capacidad tóxica. De acuerdo al color de la luz que emiten cuando son excitadas con luz ultravioleta, se les nombra como "B" cuando emiten luz azul (blue) o "G" cuando emiten luz verde (green). De acuerdo a su transformación metabólica, en los organismos también se les puede nombrar como "M" a las aflatoxinas que se encuentran en la leche (milk). Los números de la nomenclatura hacen referencia a diferencias estructurales; estas moléculas son derivados acetogénicos o policétidos de la condensación del acetomalato (figura 1). La estabilidad que presentan a temperaturas entre 240 y 269°C, ha hecho sumamente difícil su eliminación en el procesamiento de los alimentos (1).

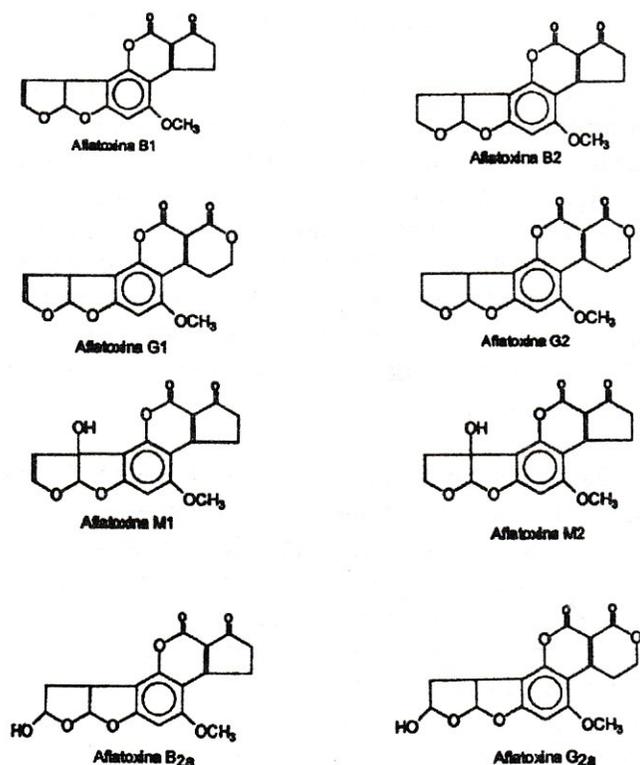


Figura 1. Representación estructural de las principales aflatoxinas. (AF=aflatoxina)

EL CRECIMIENTO Y LA REPRODUCCION DE ASPERGILLUS

Aspergillus flavus y *Aspergillus parasiticus* forman

parte de la microflora natural de la mayoría de los suelos, razón por la cual pueden contaminar cualquier substrato, produciendo aflatoxinas en mayor o menor proporción. El mecanismo de invasión del hongo es muy variado y generalmente se inicia cuando las esporas son dispersadas por el viento o transportadas por los insectos o por los pájaros que contaminan así los substratos.

Algunas de las esporas depositadas germinan y otras quedan en etapa latente, de manera que la cubierta del fruto, la semilla o cualquier otro substrato puede resistir y limitar el crecimiento; sin embargo, cuando estas cubiertas sufren un deterioro ya sea por el mismo crecimiento del hongo o de otro agente parasitario o por la agresión física en general, se convierten en sitios vulnerables, donde se inicia un crecimiento acelerado del hongo, que permite su rápida contaminación y la dispersión al resto de los substratos. Por si fuera poco, estos sitios también son vulnerables para otros consumidores secundarios que, además de incrementar el daño y disminuir las defensas, son portadores de diversos contaminantes o del propio hongo.

La contaminación de los productos agrícolas puede ocurrir durante las etapas de crecimiento en el campo previo a la cosecha, de almacén, de procesamiento industrial y de almacenamiento previo al consumo. La contaminación depende del estado fisiológico del producto, del manejo y de los tratamientos que se le den, así como de las condiciones de almacenamiento. Un buen manejo en todas estas etapas resulta en un producto libre de contaminación con *Aspergillus* y en consecuencia libre de aflatoxinas (2).

LA PRODUCCION DE LAS AFLATOXINAS

Las aflatoxinas son producidas por el metabolismo intermedio de *Aspergillus*. Existen ciertas especies como la *flavus* o la *parasiticus*, que son sobreproductoras naturales de aflatoxinas. Se desconoce la importancia de las aflatoxinas en la fisiología del hongo; sin embargo, se ha propuesto que podrían funcionar como un mecanismo de defensa contra depredadores, o bien como metabolitos de reserva o de desecho y como reguladores del ciclo de crecimiento del hongo. Su biosíntesis recuerda a la de los ácidos grasos y esteroides; en ciertas etapas del crecimiento del hongo la mayor parte de las

aflatoxinas son excretadas. Las aflatoxinas no son sintetizadas ni acumuladas o excretadas por las especies productoras durante todas las etapas de su ciclo de vida, ni bajo todas las condiciones; la fase estacionaria temprana es el momento óptimo para la producción de las toxinas, y el estrés metabólico-nutricional, así como la fase de diferenciación del hongo podrían estar implicados en la regulación de la producción de las aflatoxinas (3).

A pesar de que los hongos pueden contaminar cualquier medio, muestran cierta predilección por determinados substratos (cacahuates, maíz, trigo, nueces, coco y vino, entre muchos otros). Además requieren ciertas condiciones del medio que les permitan multiplicarse y los estimulen a producir aflatoxinas, por mecanismos aún desconocidos. Por ejemplo, la temperatura ideal para el desarrollo del hongo, oscila en el intervalo de 20 a 35°C y requiere de una humedad relativa superior al 10%, así como de una elevada presión parcial de oxígeno.

El metabolismo biosintético de las aflatoxinas está bien descrito; sin embargo, la regulación de este proceso aún no se ha esclarecido; muchos investigadores trabajan en este campo con la idea de diseñar u ofrecer medidas para bloquear la síntesis de las aflatoxinas.

Aún cuando se continúa estudiando la síntesis de las aflatoxinas y su regulación, es evidente que la mejor medida es la de mantener un substrato libre de este tipo de sustancias, así como de los hongos, por medio del almacenamiento adecuado; es decir, conservarlo a baja temperatura, baja humedad relativa y disminuir la presión parcial de oxígeno. Por medio de estas medidas, los países industrializados han abatido el crecimiento del hongo durante el almacenamiento.

EL METABOLISMO DE LAS AFLATOXINAS EN ORGANISMOS SUPERIORES

Las aflatoxinas ingresan al organismo por las vías digestiva, respiratoria y cutánea; debido a su carácter hidrofóbico, estas toxinas penetran en el organismo de manera similar a como lo hacen los lípidos. Las aflatoxinas que son ingeridas provienen de los alimentos contaminados directamente por el hongo o de alimentos de origen animal que consumieron la toxina; sin embargo, en este último caso, los

tejidos del animal o incluso la leche, contienen además metabolitos de las aflatoxinas, con una potencia tóxica igual o menor a la de la toxina ingerida (4).

Una vez dentro del organismo, las aflatoxinas se distribuyen por medio de las lipoproteínas al resto de los órganos y debido a sus propiedades hidrofóbicas sólo una muy pequeña proporción es excretada por la orina. Las aflatoxinas son metabolizadas en las células intestinales, en el riñón, en el pulmón, en el bazo y en la sangre, pero su metabolismo sucede básicamente en el hígado, por acción del citocromo P-450. Resulta paradójico que el metabolismo que trata de eliminar o de disminuir la toxicidad de la aflatoxina, al transformarla en un compuesto más hidrosoluble y susceptible de ser eliminado por la orina o por la bilis, también convierte una pequeña proporción de ésta en un derivado epóxico, el cual es un radical libre muy potente (5).

La mayor parte de las aflatoxinas metabolizadas en el hígado se conjugan con el ácido glucurónico, el glutatión o los sulfatos, originando metabolitos más hidrosolubles y fáciles de excretar.

La pequeña proporción del derivado epóxico formado, causa estrés oxidativo en la célula y como otros radicales libres puede reaccionar con diferentes componentes celulares, preferentemente con compuestos electronegativos, tales como las proteínas y los ácidos nucleicos. La alta reactividad de este compuesto impide que el daño se extienda más allá del sitio de transformación, por lo que el daño tisular producido por estas toxinas, la mayoría de las veces, se encuentra localizado en las células que las metabolizan. La reacción del derivado epóxico forma aductos con los componentes electrofílicos que encuentra, lo que altera su estructura y su función, que en el caso de los derivados que se forman a partir de los ácidos nucleicos, producen mutaciones que de no ser reparados pueden inducir carcinogénesis y teratogénesis (6).

MECANISMOS DE DAÑO DE LAS AFLATOXINAS

Las manifestaciones patológicas de la toxicidad de las aflatoxinas están relacionadas con la capacidad que tienen de dañar la estructura, la función y la síntesis de las proteínas celulares, el estrés oxida-

tivo que inducen en la célula, las alteraciones en la regulación del metabolismo celular y el daño al ADN.

Los daños por la exposición a las aflatoxinas se localizan principalmente en el hígado, debido a la importancia de este órgano en el metabolismo de detoxificación de las mismas. Sin embargo, otros órganos también suelen verse afectados.

La intoxicación aguda causa necrosis hepática, coagulopatías y hemorragias gastrointestinales, que pueden conducir rápidamente a la muerte. La intoxicación crónica ocasiona alteraciones en el metabolismo hepático de los lípidos, fibrosis hepática, cirrosis y en un periodo más largo puede producir cáncer hepático (6).

Otros órganos que pueden ser afectados son el timo, el intestino y el pulmón. En las intoxicaciones crónicas se produce aplasia del timo y disminución de la respuesta inmune; también es frecuente observar síndromes de mala absorción de nutrientes y hemorragias gastrointestinales severas, lo que conduce a deficiencias en el crecimiento; en algunos casos se ha detectado fibrosis y cáncer pulmonar por la inhalación crónica de las aflatoxinas. Estas manifestaciones, la severidad del daño y la evolución del padecimiento, varían enormemente de acuerdo a la dosis de exposición, al estado fisiológico o fisiopatológico previo y a los hábitos alimenticios del individuo. Se piensa que deben existir factores genéticos de predisposición y factores alimenticios de protección, debido a que la incidencia de cáncer hepático varía enormemente en diferentes regiones del mundo, a pesar de que la dosis de exposición a las aflatoxinas es similar en algunas de estas regiones (7).

El diagnóstico de la intoxicación crónica por aflatoxinas no se puede realizar clínicamente, debido a que es fácil confundir la aflatoxicosis con cualquier otra causa de hepatitis o de cirrosis hepática y lo mismo ocurre cuando el daño ha derivado en cáncer hepático; por estas razones, tampoco es sencillo hacer la asociación causal entre la exposición a la toxina y la enfermedad. Esta dificultad no sólo es debida a que, clínicamente, no se puede diferenciar el daño hepático causado por la aflatoxina del producido por un virus o por el alcohol, sino también

a la falta de datos epidemiológicos confiables que permitan al médico sospechar de la intoxicación con aflatoxinas, como una posible etiología.

A pesar de que se dispone de técnicas con suficiente sensibilidad y especificidad para determinar aflatoxinas en los alimentos, se requiere de pruebas con mayor sensibilidad que permitan detectar los niveles de aflatoxinas absorbidas (concentración de metabolitos de aflatoxinas en orina) o aún mejor, del daño inducido en el organismo (concentración de aductos en la sangre). Esto podría lograrse con un desarrollo tecnológico y científico más profundo, pero a su vez con el apoyo de estudios epidemiológicos que permitan calibrar el problema de salud al que nos enfrentamos y no catalogarlo como un problema más de agentes tóxicos que pueden afectar la salud, como si fuera algo poco frecuente en nuestro medio.

TRATAMIENTO DE LAS AFLATOXICOSIS

Como en todos los problemas toxicológicos, la mejor y más fácil medida es la de evitar la exposición al tóxico, más que tratar a los pacientes. Sin embargo, es necesario desarrollar estrategias terapéuticas debido a que las tendencias a evitar la exposición frecuentemente fallan.

De acuerdo a sus mecanismos de acción existen varias formas de tratar la exposición a aflatoxinas. Se ha propuesto el empleo de compuestos de origen natural (vitamina E, glutatión, carotenoides, flavonoides) como agentes protectores, los cuales se piensa que pueden actuar por lo menos en cuatro formas: 1) como antioxidantes, 2) uniéndose a los derivados de mayor toxicidad y evitando la reacción con macromoléculas, 3) modificando el metabolismo de las aflatoxinas y 4) evitando la entrada de las aflatoxinas al organismo o a la célula. No sólo se desconocen los mecanismos de acción de estos compuestos, sino que tampoco ha sido posible evaluar epidemiológicamente sus beneficios; sin embargo, los resultados de los experimentos realizados con animales son alentadores (7).

DESCONTAMINACIÓN DE ALIMENTOS

Como se ha mencionado, la mejor forma de controlar el contacto con las aflatoxinas es evitar la contaminación de los alimentos. Esto puede lograrse con un adecuado manejo desde la cosecha hasta su

almacenamiento; cuando la contaminación no ha podido ser controlada y nos encontramos con alimentos contaminados con aflatoxinas, se pueden emplear una serie de medidas descontaminantes, algunas de ellas encaminadas a eliminar al hongo, otras a evitar que se produzcan las aflatoxinas y otras a eliminar o inactivar a las toxinas que ya pudieran estar presentes en los alimentos.

En el campo pueden emplearse fungicidas químicos, para evitar la propagación del hongo. En el almacenamiento deben mantenerse condiciones desfavorables para el crecimiento del hongo (conservar la temperatura, la humedad y la presión parcial de oxígeno lo más bajo posible); sin embargo, también es común el empleo de fungicidas químicos. Cuando el hongo se ha reproducido y ha formado aflatoxinas se emplea el hipoclorito de sodio y la radiación ultravioleta, los cuales pueden eliminar al hongo o bien descomponer a las aflatoxinas e inactivar sus propiedades tóxicas. Sin embargo, estas medidas son costosas y pueden dañar la calidad de los substratos contaminados, además de que algunos de estos procedimientos pueden dejar residuos tóxicos de otra naturaleza (8).

Otra posibilidad para evitar la contaminación de los alimentos es el control biológico, que emplea microorganismos que no causan daños por sí mismos y que son capaces de competir con el crecimiento del hongo; o bien el uso de sustancias extraídas de plantas que permiten modificar la propagación del hongo o inhibir su capacidad para producir aflatoxinas (9).

Mucho se ha comentado acerca del uso de álcalis para desnaturalizar a las aflatoxinas, medida que adquiere importancia en México por el empleo de la nixtamalización para hacer la masa de maíz y con ella las tortillas de consumo generalizado. Algunos investigadores han encontrado que las aflatoxinas efectivamente se hidrolizan en el medio alcalino, pero parte de esta hidrólisis se revierte en un medio ácido, por lo cual parte de las moléculas hidrolizadas en el proceso de nixtamalización, se regenerarían en la luz del estómago debido al medio ácido que prevalece en este sitio. No existen experimentos suficientes *in vivo* y menos aún en humanos, para poder obtener en este momento una conclusión definitiva al respecto, pero los experimentos *in vitro*

y en órganos aislados indican que debemos ser cautelosos en las conclusiones (10).

LA AFLATOXICOSIS COMO UN PROBLEMA DE SALUD PUBLICA

Cuando las aflatoxinas y sus efectos tóxicos sobre las aves fueron caracterizados, surgió la inquietud de conocer los efectos en el humano. Poco tiempo después se tuvieron las primeras evidencias de los efectos tóxicos en el humano y se les asoció con hepatitis crónica, disfunciones hepáticas severas y cáncer hepático. A partir de ese momento los países industrializados tomaron medidas de control estrictas para evitar que los alimentos contaminados con aflatoxinas llegaran a ser consumidos por el hombre o por los animales de granja. Sin embargo, hoy en día las normas de regulación están basadas en experimentos realizados en animales, en observaciones epidemiológicas o en estudios *postmortem*, donde la asociación aflatoxina-enfermedad sólo puede evaluarse en etapas avanzadas y cuando hay desenlaces fatales. Por estas razones resulta imposible definir con certeza el límite de seguridad para la exposición en el humano. Las pruebas epidemiológicas para detectar aductos proteína-aflatoxina y ADN-aflatoxina en individuos expuestos a bajas dosis y el estudio clínico-patológico de poblaciones que se exponen crónicamente a dosis bajas de las aflatoxinas, permitirán establecer estos límites de seguridad. Lo anterior debe verse reforzado por estudios en el laboratorio que permitan conocer mejor los mecanismos de acción, así como las condiciones que favorecen la evolución hacia el cáncer hepático, lo cual permitirá, a su vez, entender la sensibilidad individual.

Lo anterior requiere de un sistema de médicos de atención de primer nivel que conozcan la enfermedad, sospechen de ella y soliciten los análisis necesarios para lograr un diagnóstico acertado. De otra manera nunca podrá conocerse con exactitud la incidencia en nuestro medio y las hepatitis seguirán etiquetándose como de tipo viral, de tipo químico, de tipo alcohólico, de etiología desconocida o de una combinación de estos factores.

A pesar de que aún falta mucho por conocer con respecto a los niveles tolerables, se ha logrado un avance en el conocimiento de los métodos de control; afortunadamente, los problemas económicos y legales

a los que se han enfrentado los empresarios que comercializan los alimentos contaminados con aflatoxinas, para animales de engorda, han impulsado la legislación y la aplicación cuidadosa de las medidas de control correspondientes. Es lamentable que el mismo impulso no se obtenga cuando el interés es la salud del humano.

Aún con las dificultades y errores respectivos, existen límites permisibles para el humano; sin embargo, sin un control fitosanitario adecuado y éticamente confiable, es difícil lograr un control perfecto, sobre todo si existen grandes intereses económicos que pueden debilitar la estructura del control y la toma de decisiones. De esta manera es fácil detectar industrias que exportan o importan productos contaminados, que diluyen los productos contaminados, que almacenan inadecuadamente productos que previamente no se encontraban contaminados y que después del almacenamiento lo estarán; comercios que en el anaquel no tienen los cuidados necesarios de conservación y reciclamiento de productos viejos y francamente contaminados, o individuos que no aplican las medidas esenciales de control en el alimento que consumen.

¿QUE HACER?

Por lo que hemos visto, las aflatoxinas son uno de los tóxicos de origen biológico más potentes que se conocen, con la capacidad de producir daños agudos de tipo necrótico y crónicos de tipo neoplásico. Además, existen dificultades en el diagnóstico clínico y de laboratorio de la enfermedad. Esto, aunado a la presencia pandémica de la contaminación con el hongo productor de la toxina y la posibilidad de contaminación en todas las etapas del procesamiento de los alimentos de consumo humano. Todo esto hace que las aflatoxinas conformen un verdadero problema de salud pública al que no se le ha puesto la debida atención en los países subdesarrollados.

Como sucede con todas las intoxicaciones crónicas, la falta de una relación temporal precisa entre la exposición al agente causal y la enfermedad ha hecho difícil las asociaciones epidemiológicas necesarias para alertar a los sistemas de salud y la toma de decisiones para abordar el problema.

Las aflatoxinas nos pueden estar cobrando muy cara la indiferencia, la negligencia y la ignorancia con las que las estamos tratando y resulta irónico que sean los industriales avícolas los que estén más preocupados por proporcionar un alimento libre de aflatoxinas a sus pollos, que la sociedad en general en evitar su exposición a estas sustancias.

REFERENCIAS

1. Heathcote J G y Hibbert J R (1978) Aflatoxins. En: Chemical and biological aspects, Development in food science 1. Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam, pp 10-60.
2. Resnik S (1986) Factores que inciden en la aparición de micotoxinas desde la producción hasta el almacenamiento. Editorial: Programa nacional de investigaciones en tecnología de alimentos. Argentina, pp 25-31.
3. Sinz M W y Shier W T (1991) Aflatoxin biosynthesis, J Toxicol-Toxin Rev 10: 87-121.
4. Hsieh P H D y Wong J J (1994) Pharmacokinetics and excretion of aflatoxins. En: The toxicology of aflatoxins. Editores: Easton D L y Groopman J D. Academic Press Inc. San Diego, pp 23-45.
5. Bujons J, Hsieh D P H, Kado N Y y Messeguer A (1995) Aflatoxin M1 8,9-epoxide: preparation and mutagenic activity, Chem Res Toxicol 8: 328-332.
6. Chu F S (1991) Mycotoxins: food contamination mechanisms carcinogenic potential and preventive measures, Mutat Res 259: 291-306.
7. Loarca P M G (1996) Efecto del ácido elálgico sobre la mutagenicidad y genotoxicidad de la aflatoxina B1 en microsuspensión de *S Typhimurium* y en células epidérmicas humanas. Tesis de Doctorado, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro.
8. Ferguson L R (1994) Antimutagens as cancer chemopreventive agents in the diet, Mutat Res 307: 395-410.
9. Ponce L C A (1994) Inhibición de la síntesis de aflatoxina B1 por métodos biológicos. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Veracruzana.
10. Borrego L C (1990) Determinación de contaminación por aflatoxinas en maíz y tortilla. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Coahuila.

REGULACION EN LOS MECANISMOS DE CRECIMIENTO TISULAR

María Genoveva González Morán. Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, Laboratorio de Biología de la Reproducción. UNAM

RESUMEN

Existen dos mecanismos para aumentar el tamaño de un órgano. El primero es incrementar el número de células (hiperplasia) y el segundo es conservar el número celular constante, pero las células aumentan de volumen (hipertrofia). Por lo general la hipertrofia se encuentra en los tejidos que han perdido la capacidad de dividirse por mitosis. Aunque todos los tejidos y órganos del cuerpo están sujetos a influencias que regulan el crecimiento por demandas funcionales, algunos son potencialmente capaces de un crecimiento ilimitado mientras que otros no. Esto depende de que la hiperplasia de sus unidades funcionales cese antes de la madurez o pueda continuar a través de toda la vida. La división celular parece estar controlada por una interacción de hormonas que promueven y hormonas que suprimen el crecimiento. Estos factores pueden actuar en armonía y regular el crecimiento celular.

PALABRAS CLAVES: regeneración, hiperplasia, hipertrofia, compensación regulatoria.

ABSTRACT

There are two mechanisms for increasing the size of an organ. The first one is to increase the number of cells (hyperplasia), the second one is to retain a constant number of cells but with an increased volume (hypertrophy). Hypertrophy is often found in those tissues that can no longer undergo mitosis. Although all tissues and organs in the body are normally subjected to the growth-regulating influences of functional demands, some are potentially capable of unlimited growth while others are not. This depends on whether hyperplasia of their functional units ceases prior to maturity or can continue throughout life. Cell division appears to be controlled by the interplay of growth-promoting hormones and growth-suppressing hormones. Moreover, these factors can act in concert and regulate cell growth.

KEY WORDS: Regeneration, hyperplasia, hypertrophy, compensatory regulation.

INTRODUCCION

El organismo animal posee la facultad de reparar, en mayor o menor grado, los daños sufridos en su cuerpo, ya sea por accidentes en condiciones normales o intencionalmente provocados por el experimentador.

El daño puede ser una herida, que destruye los tejidos del cuerpo animal, o puede consistir en la pérdida de un órgano o de una porción mayor del cuerpo. A veces la parte dañada o perdida puede renovarse y, en este caso, el fenómeno recibe el nombre de regeneración (1). Esta clase de regeneración incluye una zona de crecimiento en la que se elaboran los componentes que formarán la estructura a desarrollarse.

Este hecho también debe considerarse para varios tejidos que se renuevan en el cuerpo, los que constantemente generan nuevas células para reemplazar la pérdida de sus predecesoras, como la epidermis, la mucosa del epitelio del intestino, las células sanguíneas y del tejido gametogénico. Esta "regeneración fisiológica" es responsable de un continuo recambio de células, en las cuales la proporción de nacimientos y muertes está cuidadosamente equilibrada. Sin este equilibrio la morfología del tejido renovable no puede conservarse ni se mantienen constantes sus poblaciones.

Para reemplazar la parte perdida no solamente existe la regeneración morfológica, en que las estructuras son reemplazadas *in situ* por la habilidad que presentan algunos órganos para incrementar indefinidamente el número de unidades estructurales (hiperplasia), sino que también otros órganos compensan la pérdida, sin hiperplasia y solamente aumentan el resto de la masa (hipertrofia) (Fig 1).

Ambos modos alternativos de crecimiento son estimulados por demandas funcionales y se expresan en varios niveles de organización.

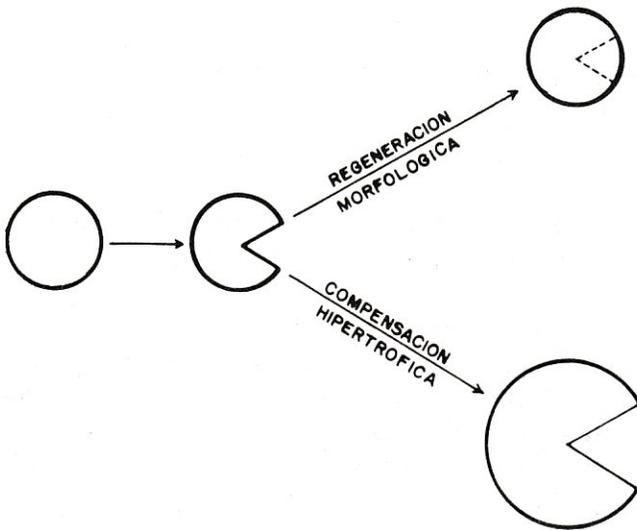


Figura 1. Comparación cualitativa y cuantitativa entre los modos de regeneración. Algunas estructuras son reemplazadas *in situ* por regeneración morfológica y en otros la porción residual crece por compensación hipertrofica.

En el cuerpo de los vertebrados ciertas estructuras son fijas en número por especie. Se forman al inicio de la ontogenia y solamente aumentan de tamaño durante la maduración del organismo. Su número es determinado. Por ejemplo: el número de cabellos, plumas o escamas del cuerpo es constante, crecen con el tamaño del animal. Todas estas estructuras pueden ser reemplazadas si se pierden, pero su

número normal no puede aumentarse. En contraste, algunos tipos celulares, como las neuronas y las fibras musculares estriadas, son mitóticamente inactivas; una vez perdidas, estas células no pueden ser reemplazadas. Así mismo, las unidades funcionales de los pulmones y riñones no pueden aumentar su número en los estadios tempranos del desarrollo y no es posible reemplazarlas si se pierden. En el humano, los nuevos alvéolos pulmonares cesan en su desarrollo durante la infancia y sólo crecen por hipertrofia de las unidades funcionales preestablecidas. Las dimensiones de los alvéolos son más grandes en los adultos que en los individuos inmaduros. Si su número se reduce o sus demandas fisiológicas se incrementan, toma lugar una compensación hipertrofica (Fig 2).

Otros órganos nunca pierden la habilidad de hacer nuevas unidades funcionales a nivel celular o histológico. Su número es indeterminado, por lo que poseen potencialidades ilimitadas para crecer (Fig 3). Esta regulación está bien ilustrada en varios tejidos del cuerpo en los que sus unidades se pierden y reemplazan constantemente; como la regeneración del hígado que produce la adición de cordones parenquimatosos en el lóbulo hepático, los órganos exocrinos como el páncreas, glándulas salival y mamaria que pueden formar nuevos acinos secretorios con un estímulo fisiológico apropiado y también la glándula tiroidea que puede producir nuevos folículos.

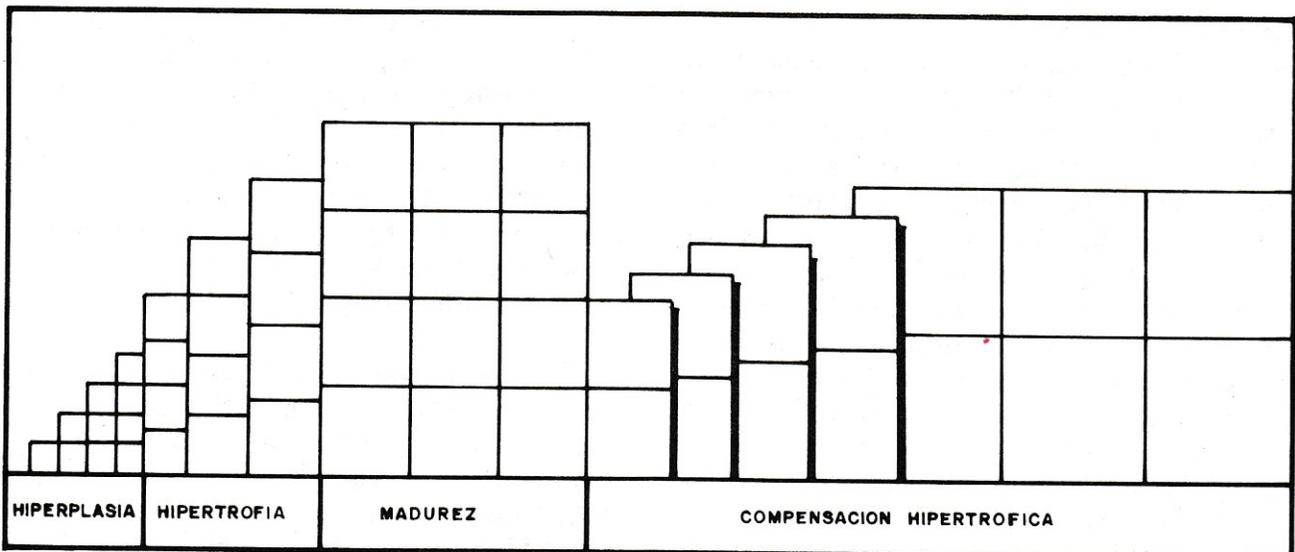


Figura 2. Representación gráfica del crecimiento en el pulmón o riñón. Los alvéolos o nefronas (cuadros) pierden la capacidad de hiperplasia antes de la maduración, pero continúan creciendo por hipertrofia.

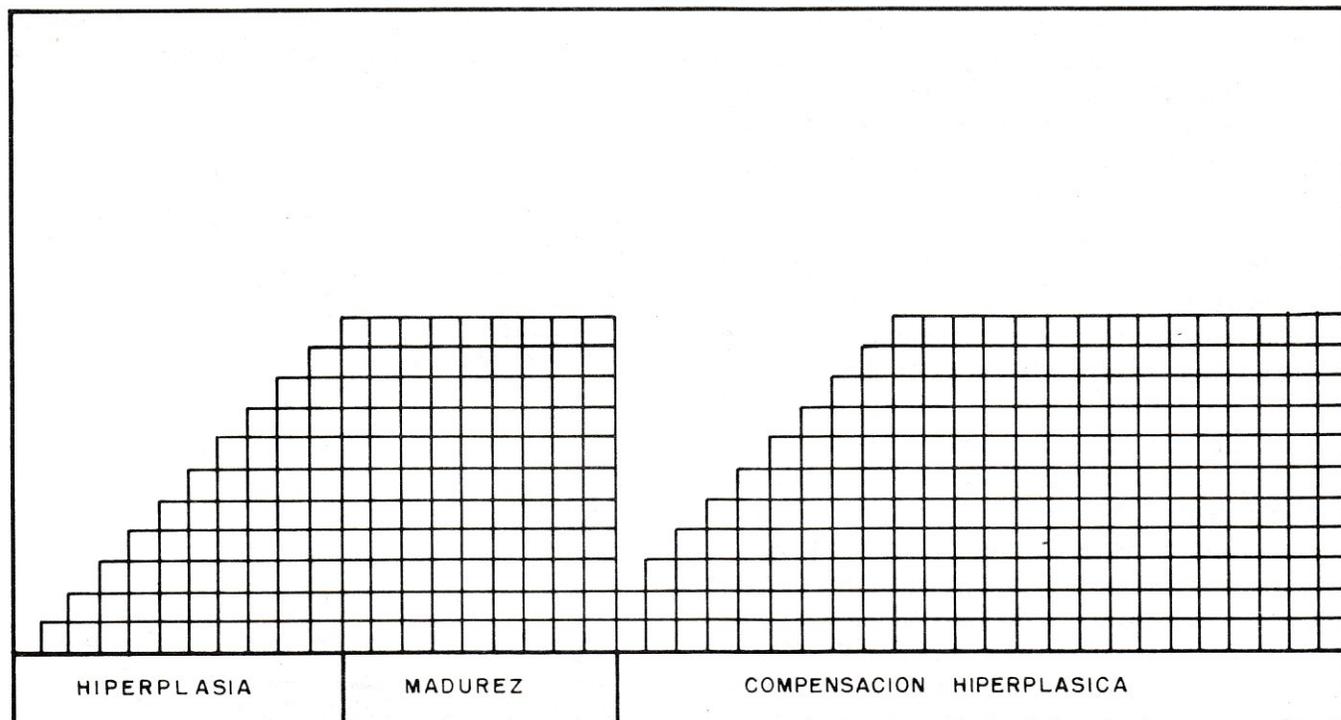


Figura 3. Patrón de crecimiento en órganos con número indeterminado de unidades funcionales.

Se pueden encontrar algunas células como las neuronas, las musculares esqueléticas y las adiposas que no se dividen durante el crecimiento. Otras como los fibroblastos, las del hueso y riñón tienen un patrón limitado y preciso de regulación de la división celular. Por el contrario, otras como las células que dan origen a las células sanguíneas y a las germinales, se dividen continuamente durante toda la vida del organismo.

¿Qué es lo que controla la duración y la velocidad de la división celular? Actualmente se han propuesto dos niveles: 1) El extrínseco, cuando el crecimiento de un órgano depende de factores derivados de otros tejidos y 2) El intrínseco, donde el tejido u órgano regula su propio crecimiento.

Un ejemplo del control de crecimiento extrínseco, en la mayoría de los vertebrados, es el control del crecimiento de todo el cuerpo, el cual es regulado por la síntesis de somatotropina u hormona de crecimiento (GR). La hormona de crecimiento probablemente actúan de manera directa sobre algunas células e indirecta sobre otras (2). Los efectos indirectos de la hormona de crecimiento ocurren por medio de compuestos llamados somatomedinas. Estos péptidos son secretados por el

hígado en respuesta a la hormona de crecimiento, sus niveles son relativamente bajos en personas con insuficiencia de esta hormona y se incrementan cuando los individuos presentan niveles normales de hormona de crecimiento. Las somatomedinas se elevan en la adolescencia y en personas con tumores que secretan hormona de crecimiento (3 y 4).

Las somatomedinas incluyen al factor de crecimiento I (IGF-I) y al factor de crecimiento II (IGF-II). Los pigmeos de Zaire tienen niveles normales de GH y IGF-I hasta la pubertad. En la pubertad los niveles de IGF-I descienden una tercera parte en relación a otros adolescentes no pigmeos (5).

Hay diferentes hormonas de crecimiento, algunas pueden estimular la división de una amplia variedad de células, mientras que otras tienen células blanco específicas.

Los factores de crecimiento extrínsecos generalmente promueven el crecimiento y los factores de crecimiento intrínsecos inhiben la división celular. Estos inhibidores son específicos para un tipo particular de célula y son llamados algunas veces calonas (6). Recientemente se han aislado calonas

específicas (B-IFN) (TGF-B) que inhiben el crecimiento de una amplia variedad de células. Moses y colaboradores (7) han encontrado, en células tumorales, la falta de receptores para TGF-B y otras líneas tumorales presentan un defecto en la síntesis de este inhibidor intrínseco.

Parece ser que la división celular puede ser controlada por una interacción de hormonas que promueven y suprimen el crecimiento. Estos factores pueden actuar en armonía y regular el crecimiento celular; por tal fenómeno, la mitosis no sólo no ocurre, sino también se detiene antes de que las células se desarrollen más allá de los límites definidos genéticamente. Como ya se analizó, no todos los órganos son capaces de multiplicar sus unidades funcionales. Entonces ¿cómo pueden los órganos repararse cuando son reducidos en masa o sobrecargados de trabajo? No parece existir otra alternativa que una hipertrofia, cuando la hiperplasia no es posible, por medio del incremento del tamaño de sus unidades funcionales en vez de aumentar su número.

La hipertrofia no es tan eficiente como la hiperplasia, pero es mejor que nada, y ha sido el camino más adecuado para restaurar órganos internos (8). Estos modos alternativos de crecimiento: hiperplasia e hipertrofia, son estimulados por demandas funcionales y pueden ser expresados a varios niveles de organización.

NIVELES DE ORGANIZACION

Los tejidos de órganos del cuerpo pueden ser clasificados de acuerdo a los niveles de organización en que son capaces de presentar hiperplasia. Esta puede existir en tres diferentes niveles: órganos, células y tejidos.

El órgano como un todo puede sufrir hipertrofia, pero los mecanismos por los cuales esto se logra difieren. Cuando solamente los orgánulos pueden multiplicarse, como en el músculo estriado, entonces la hipertrofia ocurre en los niveles de organización celular y de los tejidos. Si la hiperplasia es posible a nivel celular, entonces la hipertrofia de las estructuras histológicas es el resultado del incremento de la población celular. Cuando la proliferación celular ocurre a nivel de tejidos indica que todo se multiplica y la hiperplasia se realiza en los tres diferentes niveles. En cada una de estas tres categorías el

número de orgánulos se incrementa igualmente pero su distribución entre las células y tejidos difiere (Fig 4).

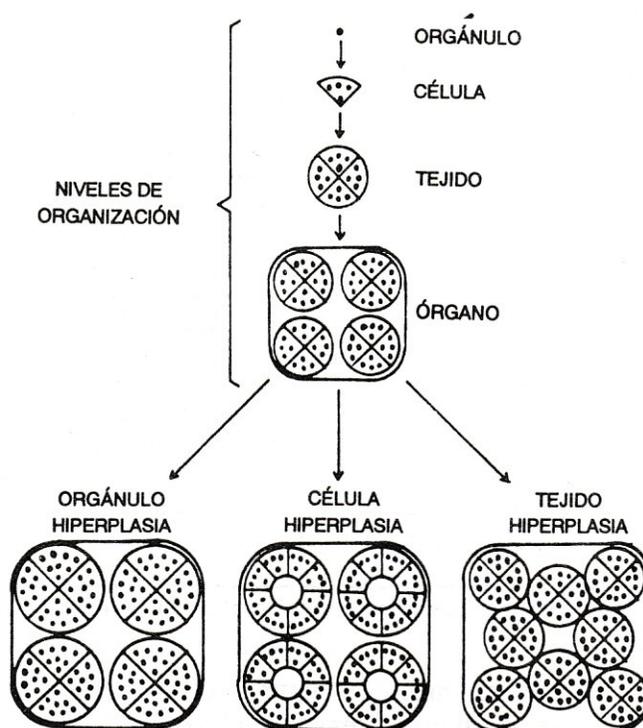


Figura 4. Ilustra los caminos alternativos en los cuales los órganos pueden duplicar su tamaño dependiendo de los niveles de organización en los cuales se lleva a cabo la hipertrofia.

Por otro lado las células que son capaces de efectuar mitosis recurren a la división mitótica para proliferar. Las células que presentan la capacidad de sustituir células dañadas o gastadas por células nuevas por división mitótica (hiperplasia), lo llevan a cabo por alguno de los siguientes tipos de programa:

1- División de células diferenciadas existentes para dar lugar a células hijas del mismo tipo, como en el caso del hígado que es un órgano compuesto de varios tejidos o tipos celulares, las cuales son renovadas por división de ellas mismas y son funcional y morfológicamente como la célula que las originó.

El hígado suele presentar una velocidad relativamente baja de renovación y recambio, pero la proliferación celular puede acelerarse, en un grado considerable, cuando una porción del tejido se daña o es eliminada por cirugía. Una vez que el hígado

recupera aproximadamente su masa original, la velocidad del crecimiento y la división celular regresan a su ritmo lento previo. Al parecer uno o más factores que circulan en la sangre estimulan la mitosis. Se ha identificado y purificado el factor de crecimiento hepatocítico (HGF), que es un potente mitógeno del hígado que actúa como un factor de crecimiento compensatorio durante el daño del órgano (9 y 10). En condiciones normales los diversos tipos celulares y tisulares se forman de manera coordinada y equilibrada, aunque no se sabe cómo se ajusta la situación y se controla la masa final.

2- Renovación celular por división de células progenitoras indiferenciadas que forman un par de células hijas diversas. Una célula hija permanece indiferenciada y funciona como futura célula materna y la otra célula entra en vía de diferenciación y realiza una función determinada. Generalmente, las células progenitoras se llaman células madre (o metéricas) en animales y células meristemáticas en plantas superiores.

Esta renovación celular es característica de muchos tejidos, como la epidermis de los mamíferos, los tejidos hematopoyéticos y los tejidos vasculares de las plantas superiores. Una característica en común de todos estos sistemas es que el tejido así formado debe ser renovado continuamente porque las últimas células diferenciadas no se pueden dividir. Por tanto, la función de las células indiferenciadas es reponer a las células dañadas o gastadas del tejido diferenciado. Aunque las células progenitoras en sí son indiferenciadas y de aspecto característico, sólo producen uno o unos pocos tipos de células del organismo, pues son unipotentes o pluripotentes.

Las células de la epidermis de los mamíferos se originan de células progenitoras unipotentes, de la capa de células basales que colinda con la lámina basal; esta lámina separa la epidermis, que está en la parte superior, de la dermis subyacente. Las diversas capas del tejido epidérmico representan varias etapas del avance celular hacia la superficie de la piel y diferentes estadios de su transformación en células escamosas queratinizadas, que pierden su núcleo y finalmente se descaman. Al parecer, la velocidad de proliferación de la célula progenitora es regulada por diversos factores de crecimiento y hormonas, así

como por el grosor de la piel sobre la capa basal de las células.

Cuando se eliminan las capas externas de la epidermis, las células progenitoras de la capa basal se dividen a mayor velocidad. La velocidad de división regresa a la normalidad cuando la nueva región de la epidermis alcanza aproximadamente su grosor normal. La explicación más sencilla de este fenómeno es que alguna sustancia que secretan las células epidérmicas inhibe la división de sus precursoras. Cuando se eliminan las células epidérmicas, los precursores ya no están bajo esta inhibición, de modo que se multiplican más rápido. A la larga, las nuevas células epidérmicas sintetizan nuevas calonas que inhibirán divisiones posteriores (6 y 11). Se cree que estas calonas específicas de los tejidos son proteínas y que, como las hormonas, viajan por el torrente circulatorio.

Es difícil demostrar que una proteína dada sea un inhibidor natural y no meramente un producto químico citotóxico. Los ensayos *in vitro* para las calonas se complican porque a menudo actúan en combinación con otras sustancias. Las calonas epidérmicas, por ejemplo, inhibirán la mitosis de las células precursoras epidérmicas *in vitro* sólo si está presente también la adrenalina. La investigación sobre si existen realmente o no las calonas ha tomado nueva importancia debido a que ciertas enfermedades, tales como la psoriasis, pueden ser el resultado de una sobreproliferación de células progenitoras. En esta enfermedad, los precursores epiteliales se dividen a una velocidad muy rápida (como si no pudiesen responder a la calona o si ésta no existiera), por tanto se engruesa la epidermis y se desprenden las células antes de que haya transcurrido el tiempo normal de su diferenciación (12 y 13).

Las células madre pluripotentes formadoras de la sangre (hematopoyéticas) de la médula ósea son de un solo tipo, pero producen todos los tipos de células sanguíneas (Fig 5): los eritrocitos que transportan a la hemoglobina a través del organismo e intervienen en el intercambio de O_2 y CO_2 ; los megacariocitos que se fragmentan y se convierten en plaquetas y participan en la coagulación de la sangre y la reparación de las paredes de los vasos sanguíneos; los leucocitos que constituyen varias líneas de defensa contra la infección, los agentes inmunógenos y la

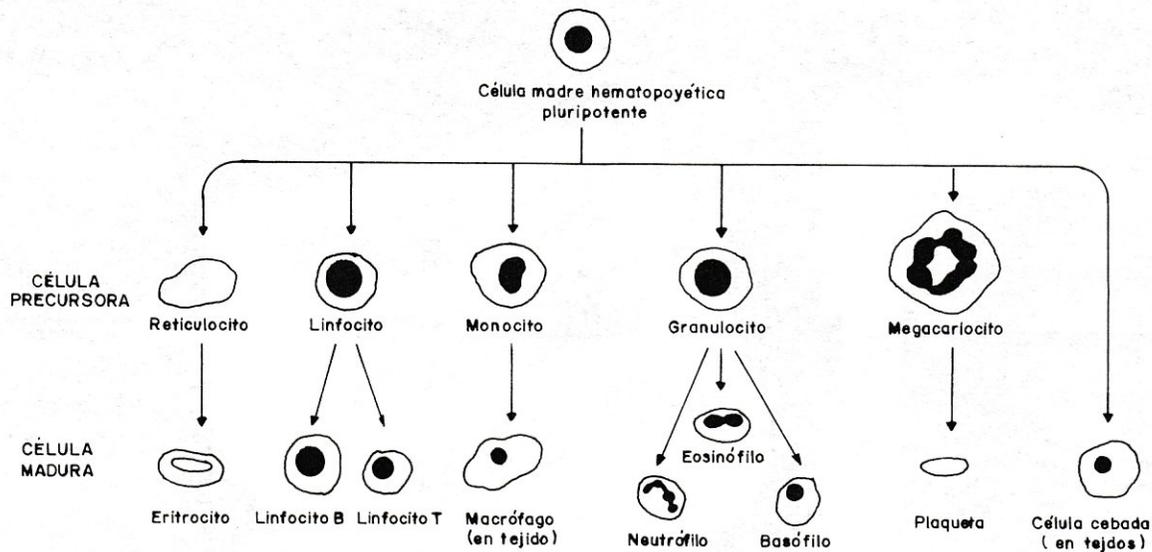


Figura 5. Ilustra cómo algunas células sanguíneas precursoras y diferenciadas se originan de las células de la médula ósea.

inflamación. Todos estos tipos de células sanguíneas pasan parte de su vida circulando libremente en el cuerpo y deben de ser renovados de manera continua. Los eritrocitos humanos maduros sobreviven alrededor de 120 días, los leucocitos tienen expectativas de vida variables, los neutrófilos viven pocos días, en tanto que los linfocitos T y B sobreviven durante años. Los diversos tipos de células sanguíneas, sus proporciones en el organismo y sus expectativas de vida, requieren controles que mantienen el balance y la producción de estos tipos celulares y así suplen las necesidades del organismo en condiciones distintas de salud y actividad. Se sabe que, en algunos casos, la reproducción es regulada hormonalmente en células que ya tienen un destino particular de diferenciación, pero todavía se encuentran en forma de precursoras; como por ejemplo, la hormona glucoproteínica eritropoyetina, que actúa solamente sobre células precursoras destinadas a convertirse en eritrocitos y sólo estimula a estas células inmaduras para que se dividan y así se repone la población de hematíes. De este modo, la eritropoyetina proporciona un control sensible específico sobre la producción de los eritrocitos. Al parecer, la proliferación de células precursoras que se convertirán en los diversos tipos de leucocitos, también depende de la respuesta de cada tipo de célula a un factor glucoproteínico específico para ese tipo de precursor celular. En todos estos casos, es la célula precursora la que es capaz de experimentar división celular y de ser estimulada para dividirse. El producto final de la diferenciación

en estos ejemplos, eritrocitos o leucocitos, no se divide (Fig 5) (14).

Entre la regeneración apendicular por un lado y la compensación hipertrófica por el otro, es extraño, pero interesante, encontrar el fenómeno de la compensación regulatoria.

COMPENSACION REGULATORIA.

La compensación regulatoria puede ocurrir cuando ciertos pares de apéndices son asimétricos en tamaño o grado de desarrollo. Algunas veces sucede que al remover estructuras especializadas, el desarrollo duplica un patrón opuesto al perdido. Esta inversión asimétrica, seguida por una amputación unilateral, fue primeramente descubierta por Hans Przibram en 1907. En esta centuria Charles Zeleny (15) realizó estudios comparables en los serpúlidos.

Un hecho curioso es que en el anélido *Hydroides dianthus*, que vive en un tubo, el opérculo se desarrolla solamente por un lado; en el lado opuesto de la cabeza hay un crecimiento rudimentario. Cuando se corta el opérculo largo funcional, se observa que el otro rudimentario empieza a desarrollarse de forma exagerada, mientras que el que se cortó da un crecimiento rudimentario (Fig 6). Cerca de cincuenta años más tarde, Abeloos en 1952, examinó este fenómeno curioso, y propuso que es evidente una comunicación neural y humoral como posible explicación para la influencia inhibitoria por la que el opérculo maduro domina al inmaduro; sin embargo,

hasta la fecha no se ha encontrado una explicación satisfactoria.

Hay ejemplos comparables de regulación compensatoria en otros sistemas. En algunas aves es peculiar que solamente hay un ovario desarrollado, el del lado izquierdo, mientras la gónada derecha permanece rudimentaria. Cuando el ovario izquierdo es removido, empieza entonces a desarrollarse el otro. En la mayoría de los casos la gónada nueva se diferencia en testículo, lo que secundariamente provoca una inversión sexual en el ave.

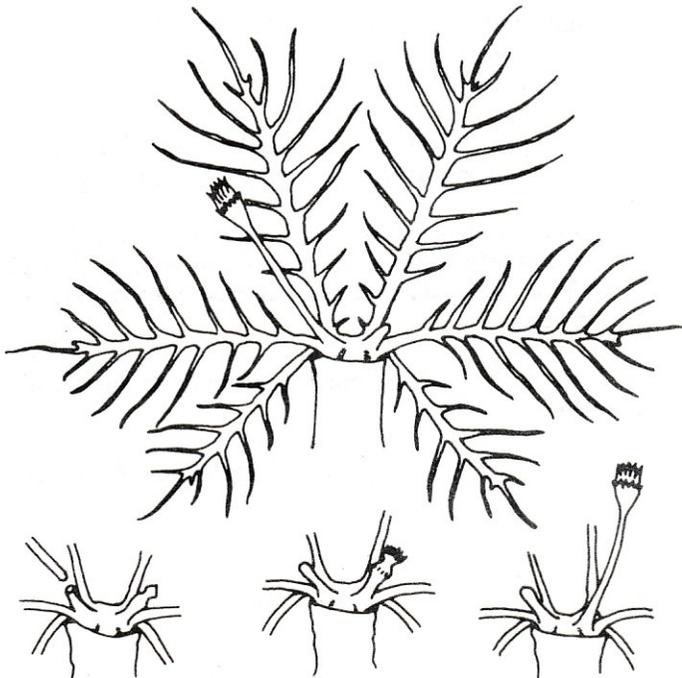


Figura 6. Compensación regulatoria en el anélido *Hydroides dianthus*.

Otro ejemplo se puede encontrar en el mamífero acuático conocido como narval. En los machos hay un colmillo largo único, que está muy desarrollado. Solamente el canino de la izquierda llega a las dimensiones de un colmillo, el otro permanece pequeño. Posiblemente hay también una inhibición contralateral. El canino pequeño puede reanudar su crecimiento si el colmillo es extraído.

Así, en varias estructuras como los opérculos de los anélidos, las gónadas de las aves y el colmillo del narval, un miembro de un par de órganos es normalmente más pequeño que el otro, pero puede desarrollarse en un tipo grande si el original es removido. La regulación compensatoria es una clase

de "regeneración" estimulada no directamente por el daño causado por la amputación, sino por la liberación de una influencia inhibitoria emanada del miembro dominante del par. Cómo opera esta influencia y cómo sostiene un desarrollo controlado, es un problema sin resolver.

Los modos de regeneración y crecimiento compensatorios tienen en común la necesidad de reemplazar las partes perdidas de órganos y tejidos por diferentes rutas.

La selección natural opera sobre las bases de una eficiencia fisiológica, no se concibe nada regenerado a no ser que sea funcional. Por lo tanto, el crecimiento es promovido cuando la masa de un órgano es reducida porque la porción residual está sujeta a grandes demandas fisiológicas. El crecimiento de cada órgano o tejido es susceptible a influencias que regulan su actividad fisiológica. Estas son variables según los trabajos que ejecutan.

El crecimiento de un organismo adulto depende de un amplio espectro de demandas funcionales. El común denominador de la regeneración y el crecimiento compensatorio cae en la utilidad imperativa de que las partes del animal maduro pueden crecer solamente con la condición de que el producto final del desarrollo sea funcional.

Generalmente se acepta, con algunas reservas importantes, que la habilidad de regeneración tiende a declinar durante el curso de la evolución. Esta noción debe ser calificada con referencia al nivel de organización en el que las estructuras pueden ser reemplazadas. En los niveles molecular y ultraestructural, la regeneración es igualmente eficiente en todos los organismos de la escala filogenética.

En los niveles superiores de organización, donde se tienen las partes histológicas complejas del cuerpo, la habilidad para el reemplazamiento ha sido truncada en el curso de la evolución.

Es necesario seguir estudiando más a fondo los mecanismos de control de la proliferación celular, lo cual nos ayudaría a comprender fenómenos como el envejecimiento, la apoptosis y la neoplasia, y pensar en la posibilidad de que algún día en el hombre se

pueda inducir la regeneración de tejidos y órganos que han perdido esta habilidad por aumento de sus unidades celulares. Así se permitiría una mejor calidad y la prolongación de la vida.

REFERENCIAS

1. Hay E (1966) Regeneration. Holt, N Y, USA, pp 289.
2. Isaksson O, Jansson J y Gauss I (1982) Growth hormone stimulates longitudinal bone growth directly. *Science* 216: 1237- 1239.
3. Vassilopoulou-Sellin R y Philips L S (1982) Extraction of somatomedin activity from rat liver. *Endocrinology* 110: 582-589.
4. Luna A, Wilson D, Wibbelsman C, Brown R, Nagashima R, Hintz R y Rosenfeld R (1983) Somatomedins in adolescence: A cross-sectional study of the effect of puberty of plasma insulin-like growth factor I and II levels. *J Clin Endocrinol Metab* 304: 545-547.
5. Merimee T J, Zapf J, Hewlett B y Cavalli-Sforza L L (1987) Insulin-like growth factors in pygmies. The role of puberty in determining final stature. *N Engl J Med* 316: 906-911.
6. Bullough W S, Laurence E B, Iverson O H y Elgjo K (1967) The vertebrate epidermal chalone. *Nature* 214: 578-580.
7. Marx J L (1986) The yin and yan of cell growth control. *Science* 232: 1093-1095.
8. Goss R (1969) Principles of regeneration. Academic Press, N Y, USA, pp 278.
9. Aldana P R, Goerke M E, Carr S C y Tracy Jr (1994) The expression of regenerative growth factors in chronic liver injury and repair. *J Surg Res* 57(6): 711-717.
10. Gohda E, Nakamura S, Yamamoto Y y Minowada J (1995) Hepatocyte growth factor pleiotropic cytokine produced by human leukemia cells. *Leuk Lymphoma* 19(3-4): 197-205.
11. Bullough W S y Laurence E B (1960) The control of epidermal mitotic activity in the mouse. *Proc R Soc (London) B* 151: 517-536.
12. Avers C J (1991) *Biología Celular*. Segunda Edición. Grupo Editorial Iberoamericano, México, DF, pp 699.
13. Alberts B, Bray D, Lewis L, Raff M, Roberts K y Watson J D (1989) *Molecular Biology of the cell*. Second Edition, Garland Publishing Inc, New York & London, pp 1216.
14. Harrison P R (1982) Stem cell regulation in erythropoiesis. *Nature* 295: 454.
15. Zeleny C (1905) Compensatory regulation. *J Exptl Zool* 2: 1-102.

MODELOS EXPERIMENTALES FISIOLÓGICOS PARA ESTUDIOS BIOQUÍMICOS: EL CORAZÓN AISLADO Y PERFUNDIDO

César Vásquez Galván y Karla Carvajal. Departamento de Bioquímica, Instituto Nacional de Cardiología. Juan Badiano # 1, Tlalpan, México 14000, DF, México.

RESUMEN

El modelo de corazón aislado y perfundido es una preparación experimental utilizada para realizar investigaciones sobre la actividad mecánica, eléctrica y bioquímica del corazón de mamífero. El principio fundamental de este modelo consiste en forzar la sangre o algún otro fluido oxigenado apropiado hacia el sistema vascular del corazón de un animal, a través de una cánula insertada en la aorta ascendente, lo cual permite el mantenimiento de la actividad cardíaca. Los parámetros usualmente evaluados son la presión de perfusión, el flujo coronario, la presión intraventricular, y la actividad eléctrica (electrograma).

La utilización de este modelo ha sido de gran utilidad en el estudio del metabolismo miocárdico y los sistemas de conducción tanto en condiciones normales, como frente a situaciones de estrés. Los mecanismos responsables de fenómenos como el daño producido por isquemia y reperfusión, así como la génesis de arritmias y la utilización de fármacos y agentes protectores para ello, han sido elucidados en gran medida con el uso de este sistema.

PALABRAS CLAVE: corazón, presión de perfusión, electrograma, flujo coronario, presión ventricular.

ABSTRACT

The perfused isolated heart is an experimental model which allows the study of the mechanical, electrical and biochemical activity of the mammalian heart. The underlying principle is to force blood, or any other oxygenated fluid appropriate to maintain cardiac activity towards the heart through a cannula inserted in the ascending aorta.

To a large extent, this model has allowed the study of myocardial metabolism and conduction system, in

both normal and stressful situations. The elucidation of the events involved in phenomena such as postischemia-reperfusion injury, the genesis of arrhythmias and the use of pharmacological agents to prevent them, has been made possible with this approach.

KEY WORDS: heart, perfusion pressure, electrogram, coronary flow, ventricular pressure.

INTRODUCCIÓN

El modelo de corazón aislado y perfundido de mamíferos es una técnica que nos permite realizar estudios sobre una diversidad de aspectos relacionados con la actividad cardíaca. Este es un método usado desde 1899, cuando Langendorff estudió las relaciones del flujo coronario fásico con la acción rítmica de músculo cardíaco. En las últimas décadas ha sido mejorado y modificado por numerosos autores, siendo muy utilizado por fisiólogos, farmacólogos, bioquímicos y morfólogos, quienes lo han empleado para la realización de estudios hemodinámicos del sistema coronario, del metabolismo y de la estructura histológica del corazón. El corazón humano ha sido conservado vivo por varias horas durante la cirugía cardíaca utilizando el principio de este modelo (1). Como modelo experimental es apropiado para ratas, cobayos y conejos (2). La presente revisión tiene el propósito de resaltar la importancia del modelo, sus ventajas experimentales, su factibilidad, así como puntualizar los aspectos prácticos más importantes para un mejor aprovechamiento de este recurso, especialmente en el campo de la investigación bioquímica.

FUNDAMENTOS

La técnica de corazón aislado y perfundido consiste en separar el corazón del cuerpo del animal, colocarlo en el sistema de perfusión y mantenerlo vivo

mediante la administración de soluciones fisiológicas en un lapso de tiempo (alrededor de dos horas) durante el cual se puedan realizar los estudios requeridos. La solución de perfusión penetra por la aorta hacia el sistema coronario en forma retrógrada durante la diástole. Durante la sístole hay una pronunciada, si no completa, compresión vascular y un reflujo parcial de la sangre coronaria hacia la aorta. Esta perfusión retrógrada cierra las valvas aórticas al igual que en el corazón *in situ* durante la diástole, siendo desplazado el flujo a través de las arterias coronarias, para ser drenado por el seno coronario y la aurícula derecha. Las cavidades cardiacas permanecen básicamente vacías durante el experimento. La presión de perfusión y la fuerza y duración de la sístole, tienen considerable influencia mecánica sobre el flujo coronario. La presión diastólica, que en el organismo intacto es una medida relativa para la magnitud de la resistencia al flujo periférico total, es una medida para el cálculo de la resistencia al flujo coronario en el corazón aislado, mientras que la presión sistólica, refleja principalmente la fuerza de contracción del corazón.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Alrededor de 12 horas antes del inicio del experimento, pueden ser separados del animal los alimentos sólidos de la dieta, para estandarizar los niveles de los componentes sanguíneos, sin limitaciones de agua, de acuerdo con el tipo de experimento. Para evitar la trombosis de las arterias coronarias durante el experimento, los animales son inyectados previamente con aproximadamente 500 unidades de heparina por 100 g de peso corporal iv o ip. En cobayos, la heparinización es innecesaria ya que el tiempo de coagulación es mayor que en otros animales ya que tienen un tiempo de protrombina de 29 seg comparado con 9-12 seg en perros, conejos, gatos y ratas. Para anestesiarse al animal, los barbituratos pueden usarse sin problema. Puede emplearse Pentobarbital, 30 mg por Kg de peso. También pueden ser sacrificados con un golpe en la nuca o por decapitación. Luego de la anestesia general, el animal se inmoviliza en una tabla de operación apropiada. Se le practica traqueotomía para asegurar la ventilación mediante una bomba de respiración asistida. Luego se realiza en la piel un corte longitudinal por los costados a partir de la parte media del abdomen hasta la garganta. Luego el abdomen es abierto hasta el diafragma, el cual es separado de las

costillas siguiendo el borde antero-inferior de la caja torácica. El tórax es cortado y abierto sobre el lado izquierdo y derecho siguiendo el borde del cartílago y el hueso sobre una línea paralela al esternón comenzando en el diafragma y procediendo en dirección al cráneo hasta la primera costilla. La pared torácica anterior completa se voltea hacia arriba sobre la cabeza del animal, fijándose en esta posición. La misma no debe ser cortada ni separada, debido al riesgo de causar hemorragia de las arterias torácicas anteriores. En seguida se remueve el pericardio hasta su unión al tronco vascular. La aorta ascendente se limpia todo lo que se pueda de tejido conectivo y se separa de la arteria pulmonar usando una pinza de disección (no usar tijeras). Se coloca un hilo de seda (4-0) alrededor de la aorta (Fig. 1).

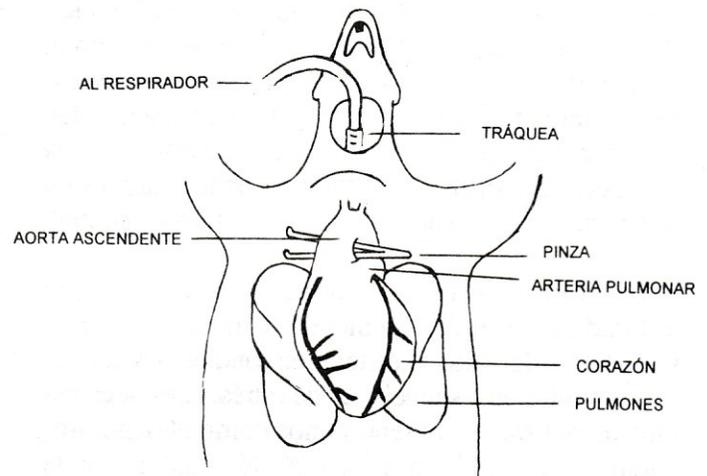


Figura 1. Presentación del órgano completo, previo a su separación.

Para aislar el corazón del animal deben cortarse los tejidos y vasos que lo sostienen y separarlo cuidadosamente, evitando dañar la parte posterior de la aurícula derecha (nodo sinusal). Luego se le hace una incisión a la aorta, a la altura del cayado antes de la bifurcación carotídea y se cuelga al sistema introduciendo la cánula (que está fija) dentro de la aorta, a la cual se fija con un hilo de seda 4-0. Este procedimiento no debe tardar más de un minuto, desde la separación del corazón hasta su instalación en el sistema. Luego de ser separado del animal, el corazón puede ser introducido en un recipiente con solución de perfusión fría, para disminuir su metabolismo y así tener tiempo para su instalación en el sistema. Hay que tomar en cuenta que la oxigenación del miocardio es interrumpida a partir del momento de la supresión de la respiración artificial.

Deben reducirse al mínimo los periodos de anoxia o hipoxia en cualquier momento del proceso de separación, instalación y acondicionamiento. Al momento de instalar el corazón en el sistema de perfusión (figura 2) deberá cuidarse de que no existan burbujas a lo largo del recorrido de la solución. Una vez instalado en la cánula, se remueven los tejidos sobrantes, tales como pulmón, vasos y grasa que pueden interferir con el registro de las señales. Durante los primeros 20 min de iniciada la perfusión, la presión en el sistema debe permitir un drenaje coronario de 20 ml por min, para posibilitar la adaptación del corazón al estado aislado, después de lo cual la presión de perfusión deberá reducirse a 10 ml por minuto (variando según la especie) de flujo coronario, ya que las concentraciones de los componentes de la solución están calculados para este volumen de flujo en condiciones fisiológicas.

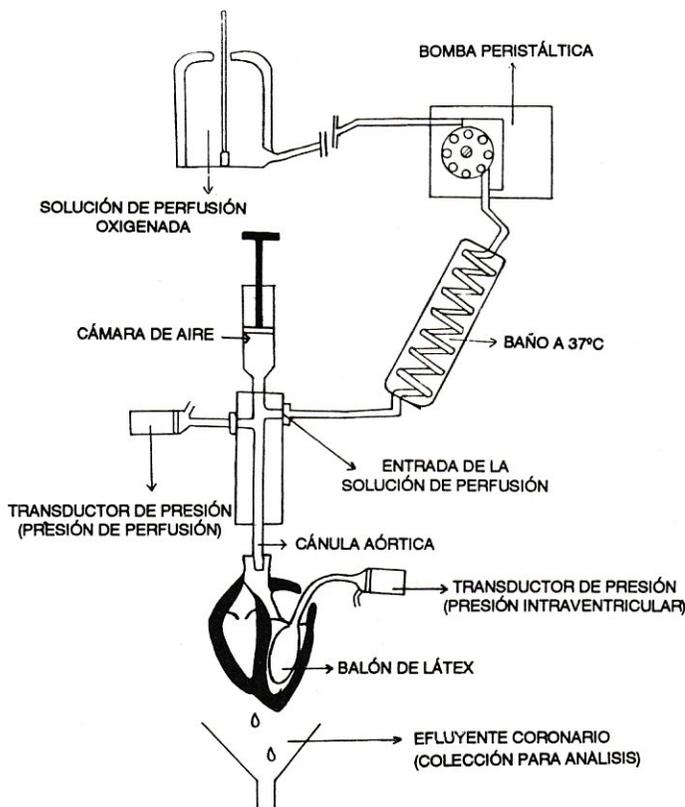


Figura 2. Instalación del sistema de perfusión para el corazón aislado, de acuerdo a la técnica de Langendorff.

SOLUCIONES DE PERFUSIÓN Y CIRCULACIÓN CORONARIA

Las soluciones más comúnmente usadas son Tyrode y Krebs-Henseleit, a las cuales debe ajustárseles el pH, filtrarse y burbujearse con carbógeno (95% de

O₂ y 5% de CO₂). La presencia de partículas insolubles en la solución, es causa de microembolismos en los vasos coronarios. La filtración de la solución a través de papel no es suficiente para este propósito, debido a que libera fibras. Diferentes autores recomiendan usar filtros de seda, conectados en serie en las tuberías del sistema. Los valores del pH de la solución influyen tanto en el flujo coronario como en la fuerza de contracción, una disminución en este parámetro puede ocasionar dilatación coronaria y menor contracción ventricular. El incremento del pH tiene efectos contrarios. La composición y concentración de las soluciones de perfusión pueden ser modificadas de acuerdo con el tipo de estudio que se realice; en algunos casos se utiliza glucosa (5-10 mM), piruvato (2-10 mM), acetoacetato (4.8 mM) o lactato (1-5 mM) como sustratos oxidables; la insulina (2-10 UI por litro) (3) puede utilizarse adicionalmente para mejorar la actividad mecánica. En el periodo inicial de la perfusión, luego de la instalación del corazón, el aumento en la oxidación de la glucosa tiene efectos benéficos sobre la función de los corazones (4) y el piruvato ha sido reconocido como un excelente sustrato oxidativo para la recuperación del miocardio aturdido, ya que mejora la función ventricular izquierda en corazones hipóxicos, estabilizando la función de contracción y reduciendo el tamaño del infarto en corazones isquémicos (5). Así también, se ha observado que produce mejoría en el bombeo de iones del retículo sarcoplásmico (6).

PRESIÓN DE PERFUSIÓN

La presión de perfusión en el corazón aislado corresponde a la presión diastólica aórtica de los animales de sangre caliente *in situ*, cuyos valores se encuentran entre 70 y 90 mm de Hg. Sin embargo, estos valores son altos en relación a los usados como presión de perfusión, ya que debe tenerse en cuenta que las soluciones utilizadas para perfundir (generalmente acuosas) tienen una viscosidad menor a la del plasma, lo que produce además una resistencia vascular menor (la viscosidad relativa del plasma es de alrededor de 2.0 y la del agua es de 1.0) (1). Cuando se registra la presión de perfusión es frecuente observar fluctuaciones cíclicas adicionales en el sistema que no corresponden al ritmo cardiaco, son producidas por el movimiento de la bomba de perfusión y pueden causar disturbios funcionales en el corazón. Para corregir este problema, basta colo-

car una cámara de aire en el sistema antes de la cánula, lo cual proporcionará la compensación necesaria entre el flujo de la bomba y el curso fásico del flujo coronario.

La presión de perfusión es un parámetro utilizado para medir la resistencia coronaria; si la resistencia al flujo coronario se incrementa (por ejemplo, con el uso de vasoconstrictores), mientras el flujo permanece constante, ocurrirá una elevación de la presión del sistema. Sin embargo, es más común el uso del corazón perfundido a presión constante, con lo cual, las variaciones en la dinámica coronaria se reflejan principalmente en el flujo, que constituye entonces el parámetro de evaluación.

MEDICIÓN DE LA FUERZA DE CONTRACCIÓN

Entre los métodos de mayor precisión para medir la presión intraventricular se encuentra el método del balón, que consiste de un pequeño balón de látex fijado al extremo de un catéter y llenado con la misma solución de perfusión, el cual es insertado dentro del ventrículo izquierdo a través de la válvula mitral. El catéter se encuentra conectado por el otro extremo a un transductor de presión, el cual transmite la señal a un polígrafo. De este modo, la fuerza ejercida por las paredes del ventrículo durante la sístole comprimen el balón de látex y se transmite por el fluido hacia el transductor. El balón puede ser elaborado de una pieza de condón de unos 3-4 cm que es atado alrededor de la punta del catéter con hilo delgado de nylon. Una vez insertado en la cavidad ventricular, debe ajustarse la presión interna del balón entre 5 y 10 mm de Hg, variando según la especie, que corresponde a la presión diastólica final. La fuerza de contracción, o presión ventricular, es el parámetro más utilizado en la evaluación de la función cardíaca, ya que la actividad mecánica del corazón depende en gran parte del estado metabólico, la actividad eléctrica y la morfología del mismo.

REGISTRO DE POTENCIALES ELÉCTRICOS

Para obtener una diferencia de voltaje suficiente, de manera semejante a la onda QRS del electrocardiograma, se puede seleccionar una diferencia ápico-basal en el corazón aislado, equivalente a la DII del registro de Einthoven en humanos, en donde la línea

de conexión de los puntos del brazo derecho a la pierna izquierda es casi paralela al eje anatómico del corazón. Debido a que tales puntos no corresponden a los sitios estándares, son llamados electrogramas, de acuerdo con Döring y Dehnert (1). Los dos electrodos (de preferencia de plata), se pueden colocar, uno en la aurícula derecha y el otro en el ápex.

Mediante los electrogramas puede hacerse una evaluación de los sistemas de conducción eléctrica del miocardio. Los parámetros evaluados pueden ser desde cambios en los tiempos de conducción eléctrica entre la aurícula y los ventrículos, hasta rasgos menos finos, registrando cambios en el ritmo sinusal y en la morfología de los principales segmentos, como en el complejo QRS.

ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL CORAZÓN

Mediante la estimulación eléctrica del corazón se puede proporcionar la frecuencia cardíaca necesaria para el mantenimiento de la circulación coronaria o para experimentos en los que la frecuencia cardíaca es una variable. Esto se logra colocando dos electrodos en la superficie de la aurícula derecha con 2-3 mm de separación. No afecta si los electrodos son colocados en el nodo sinusal. Otras localizaciones pueden interferir con la propagación del estímulo, que puede tomar rutas diferentes de la fisiológica. Algunos tipos de experimentos no requieren del estimulador.

APLICACIONES

Este modelo ha sido muy utilizado para la realización de estudios fisiológicos y farmacológicos. Ha sido muy criticado a causa de su perfusión artificial, arreflexia y la falta de un ambiente humoral normal, por lo cual la preparación puede estar deprimida y la información obtenida puede no ser completamente fisiológica; sin embargo, existen diferentes propósitos experimentales para los que se hace necesario que el órgano se encuentre aislado de nervios y de la regulación humoral. Este método ha despertado interés, sobre todo recientemente, porque posibilita la realización de registros de parámetros biofísicos (como cuando se emplean sonomicrometros para detectar el incremento en el volumen cardíaco) y bioquímicos. El número de parámetros obtenibles ha ido mejorando, así como también la

precisión de las mediciones, lo cual optimiza el significado de los resultados obtenidos de un solo corazón (1).

Este modelo ha sido ampliamente utilizado para estudiar los mecanismos asociados al daño por reperfusión en el corazón. La reperfusión del miocardio ocurre en un número de condiciones clínicas que incluyen angina inestable, terapia trombolítica, angioplastia percutánea transluminal, durante la evolución del infarto del miocardio y en el bloqueo circulatorio durante la cirugía cardiaca (7). En el sistema de Langendorff, la reperfusión se lleva a cabo restituyendo el flujo inicial de perfusión, ya sea aumentándolo o restableciéndolo (2). En los primeros 10 segundos de la suspensión del flujo, comienza el periodo de anoxia y a partir de los 30 seg puede dar inicio el proceso de la isquemia, los cuales son seguidos por cambios dramáticos en el contenido tisular de ATP y creatina fosfato y el subsecuente deterioro de los mecanismos cardiacos (1). Han sido reportadas una variedad de anormalidades bioquímicas, para explicar la sostenida pero reversible disfunción de la contractilidad del miocardio, que ocurre luego de la reperfusión, habiéndose propuesto como posibles mecanismos: la generación de radicales libres, desacoplamiento de la excitación-contracción debido a la disfunción del retículo sarcoplásmico, sobrecarga de Ca^{2+} , producción insuficiente de energía en la mitocondria, el uso de insuficiente energía por las miofibrillas y la disminución de la sensibilidad de los miofilamentos al calcio (2,8). Al contrario de lo que ocurre en esas anormalidades metabólicas, los cambios histológicos han recibido menos atención, probablemente porque los análisis histológicos microscópicos no han identificado los cambios físicos en el miocardio aturdido. Sin embargo, Sato y colaboradores, postularon que el daño a la matriz extracelular de la colágena puede explicar la disfunción mecánica sostenida (8). Varias líneas de evidencia sugieren que la sobrecarga de Ca^{2+} durante la reperfusión puede causar daño a la membrana, al sarcolema y mal funcionamiento de los orgánulos intracelulares. Este daño por calcio puede hacerse reversible durante la reperfusión (2,8). También en estudios con corazones perfundidos se han cuantificado los efectos del calcio extracelular sobre la oxidación del piruvato y la forma activa del complejo de la piruvato deshidrogenasa (9). Este modelo puede ser utilizado también para medir las

respuestas del miocardio a las modificaciones inducidas en el proceso de la fosforilación oxidativa.

CONCLUSIONES

La versatilidad de este modelo permite evaluar una gran variedad de parámetros, tales como la respuesta vascular, reflejada principalmente en la presión de perfusión o resistencia al flujo; asimismo se pueden registrar los cambios en la velocidad de conducción eléctrica, generalmente registrada como variación en la morfología de intervalos, registros del consumo de oxígeno, etc. Este modelo permite también la determinación, con alto grado de precisión y de manera relativamente sencilla, de los cambios en el metabolismo celular producidos por la reperfusión, debido a que el sistema excluye la presencia de factores que podrían contribuir a la aparición de artificios, tales como elementos formes plasmáticos, presencia de tejido no cardiaco, áreas de miocardio no isquémico, sustancias plasmáticas vasoactivas, etc. La determinación de enzimas marcadoras de daño celular (transaminasas, LDH, CPK), segundos mensajeros, productos de oxidación, concentración de iones, consumo de O_2 y otros productos metabólicos, pueden hacerse directamente en el tejido, o bien en el líquido de perfusión que efluye del corazón, ya que éste es fácilmente recolectado. Este modelo permite también hacer un monitoreo de los cambios durante todo el desarrollo del proceso (2).

RECONOCIMIENTO

Para la realización del presente trabajo hemos contado con el apoyo económico del Programa Universitario de Investigación en Salud –PUIS– de la UNAM, mediante el Convenio PUIS-Instituto Nacional de Cardiología para la Unidad de Corazón Aislado.

REFERENCIAS

1. Döring H y Dehnert H (1988) *The Isolated Perfused Heart*. Biomesstechnik-Verlag March GmbH, D-7806 March, West Germany. p 131.
2. Téllez F, Carvajal K, García C, Vásquez C, Chávez E y Moreno-Sánchez R (1996) Bases Bioquímicas y Celulares del Daño por Isquemia y Reperfusión en el Miocardio. *Arch Inst Cardiol (México)* 66:162-181.
3. Lopaschuk G, Wambolt R y Barr R (1992) An Imbalance Between Glycolysis and Glucose Oxidation Is a Possible Explanation for the Detrimental Effects of High Levels

- of Fatty Acids during Aerobic Reperfusion of Ischemic Hearts. *The J Pharmacology and Experimental Therapeutics* 264(1):135-264.
4. Bünger R, Mallet R y Hartman D (1988) Redox Manipulation of Free Cardiac Adenylates and Purine Nucleoside Release. En: *Myocardial Energy Metabolism*. Editor: J W de Jong. Martinus Nijhoff Publishers, pp 67-81.
 5. Mallet R, Hartman D y Bünger R. (1989) Glucose Requirement for Postischemic Recovery of Perfused Working Heart. *FEBS Eur J Biochem Ms* 874:1-13.
 6. Bünger R, Mallet R y Hartman D. (1989) Pyruvate-enhanced Phosphorylation Potential and Inotropism in Normoxic and Postischemic Isolated Working Heart. *Eur J Biochem* 180:221-223.
 7. Lerch R (1993) Oxidative Substrate Metabolism During Postischemic Reperfusion. *Basic Res Cardiol* 88:525-544.
 8. Sato H, Hori M, Kitakaze M, Iwai K, Takashima S, Kurihara H, Inoue M, y Kamada T (1993) Reperfusion After Brief Ischemia Disrupts the Microtubule Network in Canine Hearts. *Circulation Research* 72:361-375.
 9. Bünger R y Permanetter B (1984) Parallel Stimulation by Ca^{2+} of Inotropism and Pyruvate dehydrogenase in Perfused Heart. *Am J Physiol* 247:C45-C52.

MICROORGANISMOS: ¿ACASO PLURICELULARES TAMBIÉN?

Si al caminar a través del bosque uno se detiene y toma un puñado de tierra fértil, de humus, sería muy difícil poder imaginar a millones de microorganismos que interactúan activamente unos con otros y que llevan a cabo ciclos de vida muy complejos.

Generalmente, se tiene una idea acerca del mundo microscópico como cientos de miles de millones de células individuales, que interactúan unas con otras a manera de depredador-presa, como es el caso de las amibas y las bacterias. En este puñado de tierra, podría haber millones de bacterias asociadas a raíces muertas, o junto a restos de insectos, de donde obtienen su alimento y a miles de amibas que basan su alimento en una dieta de bacterias.

Las bacterias juegan un papel crucial en este conjunto de interacciones ya que son decisivas en procesos de circulación de elementos básicos de la vida (ciclos del nitrógeno, del carbono y del azufre), y no conforme con ello, y a diferencia de la visión tradicional que se tiene, tanto de las bacterias como de sus depredadoras, muestran interacciones y comportamientos del tipo pluricelular bastante complejos.

Un ejemplo clásico en bacterias ha sido *Rhizobium* que, se sabe, infecta las raíces de leguminosas y forma en ellas estructuras pluricelulares organizadas, que funcionan a modo de fábricas especializadas en la fijación del nitrógeno, o bien, en el caso de *Anabaena*, una bacteria fotosintética (generalmente confundida como un alga), que constituye agrupaciones pluricelulares en forma de tapetes o se entrelaza, y que está capacitada para realizar la fotosíntesis y la fijación del nitrógeno al mismo tiempo, procesos bioquímicos que son incompatibles en una misma célula. Pero como ya antes se mencionó, no se encuentran solas, sino que, cuando los niveles de nitrógeno son bajos, se producen heteroquistes, células especializadas que carecen de clorofila y sintetizan **nitrogenasa**, la enzima que les confiere la posibilidad de convertir el nitrógeno gaseoso a una forma utilizable. De otro modo, esta enzima sería inactivada por el oxígeno producido en la fotosíntesis y no existiría la posibilidad de transformación alguna de nitrógeno.

Pero las bacterias también tienen relaciones depredador-presa, por lo que algunas especies depredadoras de mixobacterias, han desarrollado una organización pluricelular en forma de colonias esféricas (ver fig. 1), formadas por millones de individuos, los cuales rodean

a las presas y las atrapan en bolsas de la superficie de dicha esfera, donde quedan eficazmente retenidas. A la hora de secretar las enzimas, éstas se concentran en la presa, evitando su dilución en el medio, lo cual aumenta la eficacia (Shapiro JA (1988) Investigación y Ciencia, México, 2:56-64).

No sólo las bacterias tienen un comportamiento social: sus voraces depredadoras, las amibas, no se quedan atrás. Se ha observado que las amibas se mantienen disociadas mientras sus presas abundan,

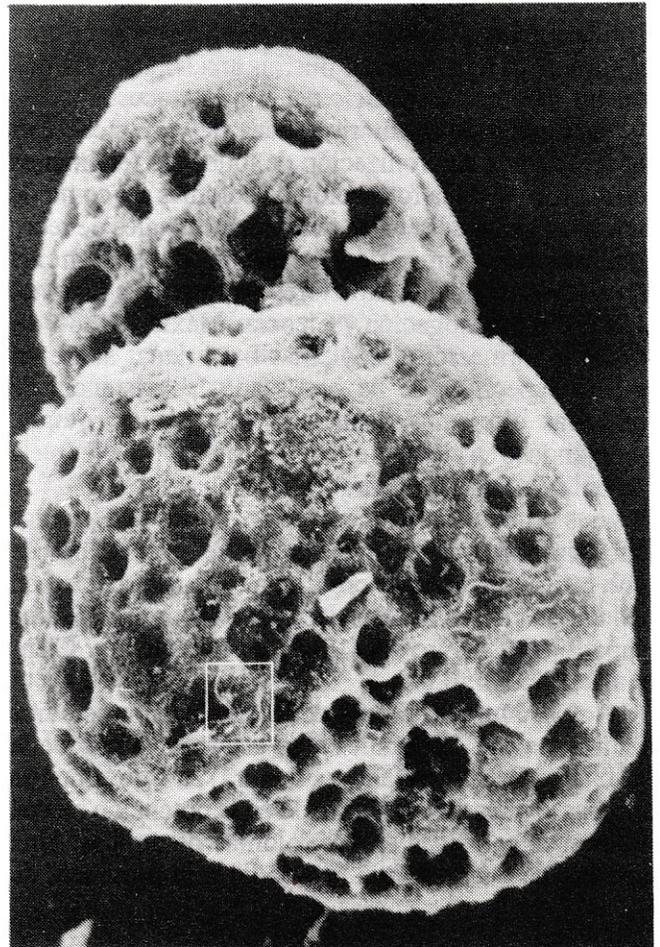


Figura 1. Esferas depredadoras formadas por millones de células de *Myxococcus xanthus*; el microorganismo se vale de esa estructura para capturar su alimento. La microscópica presa, como la bacteria *Phormidium luridum* (recuadro), queda adherida a la colonia, que en último extremo la digiere en el interior de bolsillos dispuestos en la superficie. Tomado de Investigación y Ciencia, México, 1988 volumen 2, página 59

pero en el caso de que las bacterias comienzan a escasear, se desencadena en ellas una fase social. Las células, antes individuales, ahora comienzan a formar un conglomerado hacia un punto central y se acumulan en él desde unas cuantas, hasta cien mil organismos unicelulares. Es entonces cuando comienzan a diferenciarse y en el extremo frontal de la masa, aparece un ápice en forma de pezón, dentro del cual se dará configuración a un tallo o cilindro de celulosa que se va conformando a partir de células hinchadas rígidas que se van muriendo. Este tallo va creciendo a medida que las células fluyen hacia arriba y lo enderezan, hasta que esto lleva a un cuerpo fructífero que puede ser simple o ramificado.

A este cuerpo se le ha denominado hongo mucoso unicelular, el cual es sólo un estadio en el ciclo de vida de las amibas, en donde el proceso lleva a la producción de esporas o amibas encapsuladas que se dispersarán y al encontrar un ambiente adecuado (en temperatura y humedad) se rompen y liberan una sola amiba que vuelve a comenzar el ciclo del hongo mucoso.

Para que todo lo anterior pueda llevarse a cabo, es necesaria una sincronización de todos los fenómenos en el proceso de la formación de colonias así como de una gran gama de señales tanto membranales de reconocimiento, como de liberación de sustancias quimiotácticas como atractores o repulsores (Bonner JT (1983) Investigación y Ciencia, México 6: 88-94).

En la formación de colonias bacterianas sobre un medio específico se ha observado la existencia de bacterias diferentes dentro de una misma colonia, reflejándose en elementos concéntricos y radiales de la colonia. Se pueden distinguir diferencias en el ADN de los dos grupos bacterianos, hecho que sugiere que las bacterias están sincronizadas por relojes biológicos que las capacitan para programar una diferenciación celular, la cual es una característica de los organismos superiores (Shapiro JA (1988) Investigación y Ciencia, México.2:56-64).

No obstante, en el caso de las amibas, los estudios realizados por JT Bonner y su grupo en la búsqueda de una **acrasina** (sustancia atractora) para dos tipos de amibas sociales han culminado en la obtención de dos diferentes acrasinas en las colonias de amibas. Una colonia de *Dictiostelium* respondió a la presencia de

AMPcíclico; así mismo, *Polispondilum* respondió a la presencia de un dipéptido al cual llamaron glorina debido a su composición de ácido glutámico y ornitina. Estos dos quimioatractores participaron en la diferenciación tanto del tallo como de las esporas y se observó que las células secretan una acrasinasa (enzima que inactiva a la acrasina). Juntos, forman un sistema de regulación que modula la agregación a medida que se va produciendo. Algo que no se puede dejar de hacer notar es que estos dos organismos viven en el suelo mezclados, tienen fases de desarrollo muy semejantes y cuentan cada uno con sistemas de señales diferentes. Aquí la pregunta por fuerza es: ¿cómo fue que evolutivamente se pasó de tener un péptido como señal a un nucleótido, o viceversa?

Todo lo anterior es comparable a los sistemas pluricelulares de los animales, en donde el AMP cíclico actúa en muchas reacciones de producción de señales, tanto hormonales como neuronales y en donde también se encuentran péptidos que funcionan como neurotransmisores. Aunque la utilización de nucleótidos y péptidos es un fenómeno muy generalizado, desde un punto de vista evolutivo el desarrollo de sistemas de señales, desde organismos simples hasta el hombre —en donde tenemos ya una gran variedad de hormonas y neurotransmisores— invita a suponer la manera como se desarrollaron los sistemas de señalización en animales superiores, a partir de organismos primitivos como las amibas. Se ha usado el análisis de los genes de las acrasinas con el objetivo de encontrar la manera de cómo evolutivamente se fue diversificando este tipo de sustancias conductoras de señales así como el por qué se diversificó el sistema para tener, por un lado péptidos y por otro a nucleótidos y así llegar a fenómenos tan complejos como los que se presentan en vertebrados superiores. Estas comparaciones son válidas siempre y cuando se tenga en cuenta el gran abismo existente entre un organismo individual dotado de facultades perfectamente armonizadas —la razón en el hombre, por ejemplo— y lo que difícilmente podríamos esperar de tan sólo un puñado de tierra.

Xavier Enoch Hernández Pech
Facultad de Ciencias
Universidad Nacional Autónoma de México

VICTORIA CHAGOYA DE SÁNCHEZ: INVESTIGADORA EMÉRITA DEL INSTITUTO DE FISIOLOGÍA CELULAR DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

El Consejo Universitario de la Universidad Nacional Autónoma de México, en la sesión que celebró el 13 de noviembre de 1996, aprobó la designación de Victoria Chagoya de Sánchez, como Investigadora Emérita del Instituto de Fisiología Celular de esa Universidad.

En 1957, Victoria Chagoya inicia su trayectoria en la Universidad como ayudante de profesor en la Facultad de Medicina donde, después de realizar estudios en el extranjero, obtuvo la titularidad definitiva en 1966. En 1974 se incorporó como investigadora al Departamento de Biología Experimental del Instituto de Biología, que en enero de 1979, se transformó en el Centro de Investigaciones en Fisiología Celular y más tarde, en mayo de 1985, en el actual Instituto de Fisiología Celular.

En lo que se refiere a su labor en la investigación, en 1954 publicó su primer trabajo en una revista local y en 1964, su primera publicación de distribución internacional, en una de las revistas más importantes en su campo: el *Journal of Biological Chemistry*. A partir de entonces ha acumulado una obra publicada de más de 60 artículos formales, que han aparecido en revistas de primera línea como *Biochemical Pharmacology*, *European Journal of Biochemistry*, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *FEBS Letters*, etc, que han sido citados por otros autores cerca de 300 veces.

El tema principal de sus investigaciones ha sido el efecto de la adenosina en el metabolismo intermedio. Sus estudios le han permitido evidenciar puntos claves en la regulación del metabolismo de los carbohidratos en el hígado y en el tejido adiposo. El trabajo realizado por casi 15 años, ha derivado en varias aportaciones importantes que profundizan el conocimiento de los mecanismos que intervienen en la generación del daño hepático, tanto agudo como crónico, así como valorar la utilidad terapéutica de la adenosina en el tratamiento de dichas enfermedades para las que todavía no existe cura definitiva.

Durante esos estudios observó un hecho muy importante, al investigar el destino metabólico de la adenosina que se administró a los animales, en los que encontró que se incrementaban los niveles del ATP y

éstos aumentaban la carga energética de la célula hepática *in vivo*. Hasta ese momento no se conocía ninguna sustancia que elevara los niveles de energía en la célula. De hecho con estos datos redactó uno de sus artículos, que ha sido de los más citados.

Otro hallazgo importante lo constituye el hecho de que la administración de la adenosina a ratas ayunadas, incrementa de manera importante la síntesis de glucógeno e inhibe la oxidación de los ácidos grasos en el hígado, es decir, revierte el patrón metabólico que normalmente se observa en un animal ayunado, en el que se degrada la reserva energética en forma de glucógeno y obtiene su energía de la beta oxidación, lo cual es un patrón inverso al del animal no ayunado. Así, se demostró *in vivo* la regulación del metabolismo por la carga energética, propuesta por Atkinson.

Años después, Victoria Chagoya y su grupo, observaron variaciones circádicas de la adenosina en el hígado, que coincidían con los cambios en la síntesis del glucógeno o de los nucleótidos de adenina; esto les indicó que lo que hacían, al administrar intraperitonealmente esta sustancia a los animales ayunados, era cambiarles el patrón metabólico de ayuno por el de vigilia, lo que sugería un papel fisiológico clave para este nucleósido.

Otro de los efectos producidos por la administración intraperitoneal de la adenosina sobre el metabolismo hepático, es que actúa sobre el patrón de óxido-reducción de la célula, citosólico y mitocondrial, que incrementa el estado oxidado. Estos trabajos le permitieron visualizar la importancia que tiene la beta oxidación de los ácidos grasos en el mantenimiento del potencial redox celular.

Todos estos hallazgos, principalmente el de la inducción en el aumento de la carga energética de la célula, orientaron su investigación hacia el efecto de la adenosina en situaciones de patologías hepáticas, pues es bien conocida la disminución de energía en las células hepáticas durante un proceso de toxicidad. Así se iniciaron los estudios del efecto de esta sustancia en el daño hepático inducido por diferentes tóxicos, como el etanol, por ser el hepatotóxico de mayor consumo; la cicloheximida, un inhibidor de la síntesis de proteínas y el tetracloruro de carbono, que en tratamientos agudos

es un tóxico muy dañino y cuya administración en forma crónica induce un modelo experimental de cirrosis hepática. Su grupo también ha estudiado los cambios en los parámetros energéticos en la sangre de pacientes con daño hepático de origen alcohólico y no alcohólico.

En algunos estudios que ha llevado a cabo en la corteza cerebral, ha encontrado que, junto con los cambios en la adenosina y su metabolismo, hay diversas variaciones en el ciclo de las pentosas, en el del glutatión, en la lipoperoxidación y en la composición lipídica. Estos hallazgos indican que la adenosina puede modular la neurotransmisión y participar en la regulación del ciclo sueño vigilia, independientemente de hacerlo en la homeostasis energética del cerebro.

La Dra Chagoya inició su actividad como profesora titular definitiva de Bioquímica de la Facultad de Medicina en 1966. Más adelante, ya en el Instituto de Fisiología Celular, participó en el posgrado de Química y en el de Investigación Biomédica Básica de la Unidad Académica de los Ciclos Profesional y de Posgrado del

Colegio de Ciencias y Humanidades. Durante este tiempo, dirigió 13 tesis de licenciatura, cuatro de maestría, cuatro de doctorado y una de especialidad, así como a un alumno extranjero que hizo una estancia de posdoctorado en su laboratorio. En la formación de personal destaca que varios de los alumnos que han sido dirigidos por ella en las tesis de diversos niveles, en la actualidad son investigadores independientes.

La labor de investigación y docencia de Victoria Chagoya, que le ha valido el nombramiento de Investigadora Emérita, se ha llevado a cabo en las siguientes dependencias de la Universidad Nacional Autónoma de México: la Facultad de Medicina, el Instituto de Biología, el Centro de Investigaciones en Fisiología Celular y el Instituto de Fisiología Celular.

Jesús Manuel León Cázares
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

RICARDO TAPIA IBARGÜENGOYTIA: INVESTIGADOR EMÉRITO DEL INSTITUTO DE FISIOLOGÍA CELULAR DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

En la sesión del Consejo Universitario, máxima autoridad de la Universidad Nacional Autónoma de México, que se llevó a cabo el 13 de noviembre de 1996, se aprobó el nombramiento de Investigador Emérito del Instituto de Fisiología Celular de esa Universidad, en favor del Dr Ricardo Tapia Ibargüengoytia.

El Dr Tapia, inició su carrera académica que ha resultado ininterrumpida y fructífera, en el Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, cuando aún era estudiante de la Facultad de Medicina de la misma Universidad. En 1963, obtuvo el título de Médico Cirujano en esa misma Facultad y en 1969, fue el primero en recibir el grado de Doctor en Bioquímica, que por medio de la Facultad de Química, otorgó nuestra máxima casa de estudios. En 1971 ocupó la jefatura del Departamento de Biología Experimental, del mismo Instituto, desde la cual, en 1973, fungió como uno de los principales promotores de la integración de un grupo de 10 investigadores de la Facultad de Medicina al Departamento de Biología Experimental del Instituto de Biología, lo que produjo, en 1979, la fundación del Centro de Investigaciones en Fisiología Celular, en donde fue jefe del Departamento de Neurociencias. Dicho Centro se transformó, en 1985, en el actual Instituto de Fisiología Celular.

Como investigador, labor que ha desarrollado en su totalidad dentro de nuestra Universidad por más de 30 años, se ha distinguido como uno de los más importantes del país, además de gozar de un amplio reconocimiento en el extranjero, debido a sus contribuciones sobre la función que llevan a cabo algunos aminoácidos que actúan como neurotransmisores centrales y su influencia en varias alteraciones neurológicas como la epilepsia, así como sobre los mecanismos de hiperexcitabilidad neuronal. Estas aportaciones, que se inician en 1962 con la publicación de un trabajo en la revista *Biochemical Pharmacology*, en el que acompaña como coautor a Guillermo Massieu y a Bertha Ortega, se han dado a conocer a la comunidad académica mundial en más de una centena de artículos publicados en revistas de distribución internacional, entre las que se encuentran las de mayor impacto en el área de su especialidad, como *Experimental Brain Research*, *Neuroscience*,

Brain Research, *Neurochemical Research* y el *European Journal of Pharmacology*, entre otras. Dentro de los capítulos de libros publicados por editoriales como Academic Press, Raven Press, Alan R Liss y Pergamon Press, entre otras, destacan los del *Handbook of Psychopharmacology* y el *Handbook of Neurochemistry*, editados por Plenum Press, que se elaboraron en respuesta a la invitación expresa de los editores. Además de sus artículos en revistas internacionales, ha publicado más de 40 trabajos de investigación, docencia y difusión en varias revistas y libros de circulación nacional, como la revista *Ciencia*, de la Academia de la Investigación Científica y la *Gaceta Médica de México*, entre otras. Las citas a sus contribuciones suman más de dos mil.

En el terreno de la docencia, después de una participación de más de 18 años como profesor de Bioquímica en la Facultad de Medicina de nuestra Universidad, empuñó sus esfuerzos en la planeación, establecimiento y desarrollo del Proyecto de Licenciatura, Maestría y Doctorado en Investigación Biomédica Básica, del Colegio de Ciencias y Humanidades de esta Universidad, que culminaron con la inclusión del Instituto, entonces Centro de Investigaciones en Fisiología Celular, entre las sedes de ese proyecto, dentro del que por casi 20 años ha desarrollado labor docente, de tutor y de director de tesis, tanto de licenciatura como de posgrado. También ha aportado su experiencia y entusiasmo en cargos como el de Coordinador de Sede y desde 1989, el de Coordinador General del proyecto. Es importante mencionar que este proyecto fue uno de los mejores entre los posgrados de la Universidad, pues en 20 años de funcionamiento se graduaron 198 maestros y 99 doctores en Investigación Biomédica Básica, lo que representa una eficiencia terminal de aproximadamente el 70% para la maestría y el 80% para el doctorado.

Como Coordinador del proyecto impulsó la revisión de las normas complementarias del mismo, para que se adecuaran al Reglamento General de Estudios de Posgrado de la Universidad y dentro de éstas se establecieron varios criterios académicos, como los requisitos para el ingreso al grupo de tutores, así como diversos mecanismos de funcionamiento que se

integraron al proyecto del modelo del posgrado único en esta Universidad.

En lo que respecta a la formación de personal, desde 1966 ha dirigido 18 tesis de licenciatura, 14 de maestría y siete de doctorado. Es importante hacer notar que varios de estos alumnos, siguen relacionados con labores académicas de docencia o de investigación.

Debido a su trayectoria como docente, ha sido profesor invitado y coordinador de medio centenar de cursos en varias universidades del país y del extranjero. También ha participado como autor o coautor en la escritura de cuatro libros, de los cuales tres son para la docencia de los niveles medio superior, superior y de posgrado y uno es de divulgación. Este último, intitulado *Las células de la mente*, del cual es el único autor, fue editado por el Fondo de Cultura Económica y lleva tres reimpresiones con un tiraje total de 29 mil ejemplares. Dentro de la divulgación de la ciencia también ha participado en el análisis de las características de la educación superior en el país, por medio de una treintena de artículos periodísticos y en revistas de divulgación, así como de varios programas de radio y más de un centenar de conferencias, actividades con las que ha ayudado a que se comprendan mejor las características de las tareas de investigación científica, así como el papel de la Universidad, a la cual ha defendido en todo momento.

Su calidad de experto en el área de las Neurociencias le ha valido la invitación a participar en numerosos simposios internacionales organizados por la American Society for Neurochemistry, la International Society for Neurochemistry y la International Brain Research Organization, entre otras, así como la invitación a formar parte del Comité Editorial, durante varios períodos reglamentarios de ocho años, de las revistas *Journal of Neurochemistry* y *Neurochemical Research*, consideradas entre las más importantes en el campo. Hace cuatro años, recibió el nombramiento de Editor Ejecutivo de la revista *Neurochemistry International*, que le da la prerrogativa de evaluar los trabajos enviados por los investigadores de los laboratorios del continente americano. También ha sido integrante de las mesas directivas de la International Society for Neurochemistry, de la American Society for Neurochemistry y de la Society for Neuroscience.

En el país ha recibido distinciones importantes, como son las memberships en la Academia de la Investigación Científica, de la que recibió uno de los

premios anuales; de la Academia Nacional de Medicina y de varias sociedades científicas nacionales. Además, desde la fundación del Sistema Nacional de Investigadores, es Investigador Nacional del nivel III. En 1985, la Universidad Nacional Autónoma de México, le otorgó el Premio Universidad Nacional en Investigación en Ciencias Naturales. El Instituto Syntex lo distinguió con el Premio Rosenkranz, la Secretaría de Salud le confirió el Premio de Investigación sobre Epilepsia y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología una Cátedra Patrimonial Nivel I.

La experiencia acumulada por el Dr Tapia, durante su labor académica ininterrumpida por más de 30 años, le ha permitido intervenir en el establecimiento de varios grupos de investigación no sólo en la Universidad sino en otras instituciones nacionales, de tal manera que ha contribuido a la existencia de una escuela sólida de neuroquímica y de neurociencias en el país.

Por ser una persona analítica y crítica, empeñada en la defensa de los criterios académicos, ha formado parte, como integrante distinguido, de diversos cuerpos colegiados como Comisiones Dictaminadoras, jurado de los Premios Universidad Nacional Autónoma de México, delegado al Congreso Universitario, integrante de la Comisión del Consejo Universitario para el proyecto de los Consejos Académicos de Área, del Comité de Evaluación del Programa de Apoyo a las Divisiones de Estudios de Posgrado y del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Docente. Fuera de esta Universidad y como reconocimiento a su labor académica, ha sido invitado a formar parte de diversos cuerpos colegiados, como varios comités del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, de la Academia de la Investigación Científica, de la Academia Nacional de Medicina, de la Sociedad Mexicana de Bioquímica, del Sistema Nacional de Investigadores, del Premio Puebla y del Premio México.

Es indudable que el reconocimiento que ha recibido por parte de su Universidad, es uno de los más merecidos y significativos, pues da cuenta de una trayectoria académica vivida *en, para y por* la Universidad Nacional Autónoma de México.

Jesús Manuel León Cázares
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

“UN EDITOR EN JEFE LLAMADO DR. LEÓN”

Aquel viernes, después de la polémica que desatara la presentación sobre el ensayo en el proceso enseñanza-aprendizaje, reunidos en uno de los pasillos del aún majestuoso Palacio de la Escuela de Medicina que daba albergue al V Congreso de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, el grupo de los organizadores trataba afanoso de poner fin a la polémica: —La educación debe ser personal, razón por la cual el profesor debe de centrar su atención en cada alumno. Las evaluaciones de los alumnos deben de realizarse a través de un ensayo, del cual el profesor hará un análisis crítico de la forma y del contenido, para ser comentado con el grupo; para que así, con el ejemplo, cada alumno entienda y aplique el proceso de razonamiento a su enseñanza particular, de manera que todos, profesores y alumnos, saldremos beneficiados.

Esas fueron más o menos las palabras de uno de los dos hombres del grupo, que destacaba no sólo por lo elevado de su estatura, sino por su porte distinguido. Vestía una chamarra de color azul marino que lo hacía parecer de tez aun más blanca y llevaba unos lentes que no podían disimular el brillo de su mirada que aparecía muy a menudo acompañada de una amable sonrisa. Su cabello era cano y en sus manos como de cirujano llevaba una sortija de matrimonio, asido casi siempre de la mano de la radiante y encantadora esposa; su cómplice y responsable directa de tan singular polémica. También resultaba muy notable en aquel hombre el empleo de las palabras precisas y la perfecta entonación de su voz, que parecía más contundente por el dejo de experiencia y el buen decir que nunca lo abandonan, tan convincente que tal vez por eso le llamaban Dr León.

De inmediato surgieron diversas opiniones que contrastaban y en cierta forma ponían en duda la aplicación práctica de sus ideas. —En la actualidad no es posible lograr una educación tan individualizada en la licenciatura, debido al gran número de alumnos y a las enormes limitaciones de tiempo— puntualizó el otro hombre, “encaminador de almas”, quien aprovechaba hasta la más mínima oportunidad para hacer entrar a todos en discusión. —Mire Víctor— respondió rápidamente el Dr León, afirmando que, en su experiencia, no sólo era posible, sino que los ejemplos le confirmaban que era deseable un giro de la educación o mejor dicho un retorno al estilo de la antigua academia.

—Aun cuando usted tenga razón, y creo que la tiene, en la actualidad, la educación, los estudiantes, los profesores, así como la estructura académica y social en general, no permitirían un cambio de tal naturaleza —afirmó una de las ponentes que fortuitamente se vio incluida dentro del grupo y que desde entonces se convirtió en una de sus más fieles seguidoras, mostrando cierto orgullo de haber dado la opinión más conciliadora.

—Las cosas son como nosotros queremos que sean y todo es posible siempre y cuando exista quien luche para lograr el cambio —dijo el Dr León con firmeza, con la seguridad de quien sabe a ciencia cierta lo que dice, pero con la tristeza de saber que en la vida cotidiana la educación dista mucho de esa filosofía, con el orgullo de haber ejercido sus ideas durante toda su vida y con la valentía de seguir manteniéndolas, promoviéndolas y defendiéndolas a pesar de todo.

En ese momento quedó concluida tan acalorada discusión, ya que después de haber presenciado el entusiasmo y la pasión con la que se manejaban los argumentos, el resto del grupo no pudo menos que reconocer que tenía la razón y que en muchas ocasiones, nosotros mismos nos derrotamos cuando no sabemos defender nuestros ideales y menos aún cuando creemos que están lejos de nuestro alcance.

Pero el Dr León no sólo ha hecho gala del entusiasmo cuando enseña algo, sino que también cuando alguien habla, confiere toda su atención, asiente y sigue la plática con todos sus sentidos y uno puede sentirse el mejor orador por la expresión de tal interlocutor al analizar lo que uno ha dicho. Y habría que verle en alguna reunión; como aquella tarde en que tuvo que presenciar y ser cómplice de una de las travesuras de uno de los del mismo grupo, que, aún hambriento, a pesar de haber probado el exquisito chile en nogada y los no menos deliciosos frijolititos sazonados con hojas de aguacate que habían ofrecido los anfitriones, comió la frutita de una preciosa niña de ojos centellantes, que había acudido a la misma reunión con sus cuidadosos padres; esa tarde entre anécdotas, planes, chismes y chistes, todos ellos salpicados de la seriedad necesaria y de tremendas carcajadas, quedó confirmado que el hombre además poseía una gran calidez humana.

Esa misma pasión se ha reflejado en su papel como director del BEB, por lo cual sólo resta reconocer el gran honor de poder compartir actividades profesionales con una persona de tales características, de la cual se aprende todo el tiempo, pero un mayor orgullo es el poder considerarse su amigo. Es tiempo de que inicie una nueva aventura, en la que seguramente sus ideas inquietarán y causarán discusiones con mucha gente; seguirá soñando y realizando sus sueños. Pero a pesar de la distancia o del tiempo, no podrá librarse aún porque está amenazado para brindar sus opiniones de todo lo que se escriba, ya que para nosotros siempre será nuestro Editor en Jefe.

Araceli Florido Segoviano y
José Víctor Calderón Salinas
Departamento de Bioquímica, Centro de
Investigación y de Estudios Avanzados del IPN

EL INSTITUTO SUPERIOR DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA

en ocasión del

35 ANIVERSARIO DEL INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS Y PRECLÍNICAS "VICTORIA DE GIRÓN (ICBPVG)"

celebrará el Congreso Internacional de Ciencias Básicas Médicas *CIBAMED-97*, del 13 al 15 de octubre, 1997, y las Actividades Conmemorativas, del 16 y 17 de octubre, 1997, en el Campus Universitario del ICBPVG. Ciudad de La Habana, Cuba.

Con el tema principal:

"La Salud Humana: Causa y Consecuencia del Desarrollo"

DIRIGIDO A:

médicos, enfermeras, estomatólogos, tecnólogos, bioanalistas, gerentes universitarios y otros profesionales vinculados a las Ciencias Básicas.

ACTIVIDADES:

Simposios, Conferencias, Mesas Redondas, Talleres y presentaciones en Carteles.

DIRECCIÓN DEL EVENTO:

ICBPVG Calle 146 y Ave 31, Cubanacán, Plaza, Ciudad de La Habana, Cuba. TELF: (537) 21-3945, 21-0255. FAX: (537) 33-6257 E MAIL: cibamed97@giron.sld.cu

FECHA LÍMITE:

Recepción de resúmenes: 1/7/97
Respuesta de aceptación: 1/9/97

INVITADO DE HONOR

Presidente Fidel Castro Ruz

Fundador del Instituto

PRESIDENCIA DE HONOR:

Dr. Carlos Dotres, Ministro de Salud Pública, MINSAP.
Ing. Fernando Vecino, Ministro de Educación Superior, MES.
Dr. José B. Jardines, Viceministro para el Área de Docencia e Investigaciones, MINSAP.
Dr. José Jordán, Presidente del Consejo Nacional de Sociedades Científicas de la Salud, CNSCS.
Dr. Julián Álvarez, Coordinador del Polo Científico del Oeste.
Dr. Juan Carrizo, Rector del Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana, ISCMH.

COMITÉ ORGANIZADOR:

Presidente: Lázaro Díaz Hernández.

Secretariado: J. E. Fernández-Britto, J. C. García, F. Ilizástegui, J. R. Molina, M. Rodríguez, A. Vicedo.

COMISIÓN CIENTÍFICA:

C. Campa, Lázaro Díaz, A. Lage, M. Limonta, J. E. Fernández-Britto, J. Fernández Sacasa, J. L. Fernández Yero, F. Ilizástegui, J. C. García, L. Heredero, A. González Griego, F. González, C. Gutiérrez, A. Gutiérrez Muñoz, J. R. Molina, F. Morales, M. Valdés y A. Vicedo.

PATROCINADORES:

Ministerio de Salud Pública
Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana
Consejo Nacional de Sociedades Científicas de la Salud
Centro Nacional para el Desarrollo Educativo en Salud CENDESA
Organización Panamericana de la Salud OPS

CENTROS COLABORADORES:

- Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, CIGB
- Centro Nacional de Investigaciones Científicas, CENIC
- Centro de Inmunología Molecular, CIM
- Centro de Inmunoensayo, CIE
- Instituto Finlay (Vacunas y Sueros)
- Centro Nacional de Genética Médica
- Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio, CENPALAB
- Centro de Investigaciones Biomédicas, CIBIOMED
- Centro de Investigaciones y Referencia de Aterosclerosis, CIRAH
- Departamento de Crecimiento y Desarrollo, Facultad de Ciencias Médicas, Julio Trigo

OBJETIVOS PRINCIPALES:

1. Destacar el papel de las disciplinas básicas en la formación de recursos humanos para la salud.
2. Intercambiar experiencias sobre el desarrollo de las Ciencias Básicas Médicas y su impacto en el progreso de la Medicina.
3. Estimular la preparación de especialistas en Ciencias Básicas como cuadros para la docencia y la investigación.

PRINCIPALES TEMÁTICAS

*Enseñanza de las Ciencias Básicas:

- **Disciplinas Biomédicas:** Anatomía, Bioquímica, Embriología, Enfermería Básica, Fisiología, Genética, Histología, Inmunología, Morfología Integrada.
- **Disciplinas de Formación General:** Ciencias Sociales y de la Conducta, Lenguas Extranjeras, Cultura Física y Deportes, Metodología de la Investigación, Bioestadística, Computación, Información Científica.

*Ciencias Básicas e Investigación en:

- Biotecnología
- Vacunas
- Anticuerpos Monoclonales
- Hepatitis B
- Estrés Oxidativo
- Animales de Laboratorio
- Patogenia de la Aterosclerosis
- Crecimiento y Desarrollo Humano
- Neurociencias
- Inmunoanálisis
- Genética Humana
- Diagnosticadores
- Biología Molecular
- Productos Naturales
- Medicina Natural y Tradicional
- Calidad de Vida
- Ética y Ciencias de la Salud

SEGUNDO AVISO SOBRE EL XXIV TALLER DE ACTUALIZACIÓN BIOQUÍMICA AVISO URGENTE

A los profesores de bioquímica y materias afines de todo el país.

El Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM, invita a todos los profesores de bioquímica y materias afines a participar en el XXIV Taller de Actualización Bioquímica, que se realizará del 11 al 15 de agosto de 1997, en el Palacio de la Antigua Escuela de Medicina, ubicado en la plaza de Santo Domingo, en el Distrito Federal.

A continuación proporcionamos información de los precios de algunos hoteles ubicados en el Centro Histórico de la Ciudad de México, cerca del Palacio de la Antigua Escuela de Medicina.

| Hotel y dirección | Sencilla | Doble | Triple |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|----------|----------|
| RITZ (4★) Av. Madero 30, Centro Tel. 518-13-40 Fax 518-34-66 Estos precios están sujetos a un 17% de impuesto. | \$170.00 | \$180.00 | \$210.00 |
| CATEDRAL (3★) Donceles 95, Centro Tels. 518-52-32, 521-61-83 Fax 512-43-44 | \$180.00 | \$250.00 | \$316.00 |
| GILLOW (3★) Isabel la Católica 17, Centro Tels. 518-14-40 al 46 Fax 512-20-78 | \$180.00 | \$250.00 | \$310.00 |
| DILIGENCIAS (3★) Belisario Domínguez 6, Centro Tels. 526-58-40 al 45 Fax 512-23-28 | \$105.00 | \$140.00 | \$155.00 |

Les suplicamos que antes de hacer su reservación, verifiquen la vigencia de los precios, ya que estos pueden cambiar sin previo aviso. Los trámites de hospedaje se tienen que hacer directamente con el hotel; el Comité Organizador no tiene ninguna relación con los hoteles.

Con respecto a la inscripción al XXIV Taller de Actualización Bioquímica, se les informa que el costo será de \$225.00 (doscientos veinticinco pesos) hasta antes del 30 de junio de 1997 y, posteriormente, la cuota de inscripción se incrementará a \$275.00 (doscientos setenta y cinco pesos), los cuales pueden ser enviados por giro postal a nombre de cualquiera de los integrantes del Comité Organizador.

Para mayores informes, favor de dirigirse a los miembros del Comité Organizador: Doctores Federico Martínez Montes, Marco Antonio Juárez Oropeza, Juan Pablo Pardo Vázquez o Sara Morales López, al Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. Teléfonos: (5) 623-21-68, (5) 623-21-69, (5) 623-25-10 y (5) 623-24-08. Fax (5) 616-24-19, o al Apartado Postal 70-159, Coyoacán, CP 04510, México, DF.

Nota: La comida de clausura tiene un costo de \$200.00 por persona. Es necesario nos confirme su asistencia a este evento, enviando su pago a más tardar el día 15 de julio del presente año.

Atentamente
El Comité Organizador

XXIV TALLER DE ACTUALIZACIÓN BIOQUÍMICA

Semana del 11 al 15 de agosto de 1997

| HORA | LUNES 11 | MARTES 12 | MIERCOLES 13 | JUEVES 14 | VIERNES 15 |
|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| Coordina | Dra. Patricia del Arenal | Dr. Juan Pablo Pardo | Dra. Sara Morales | Dra. Martha Zentella | Dr. Federico Martínez |
| 8:00 | Inscripción | | | | |
| 9:00-9:15 | Inauguración | Fosforilación oxidativa. Regulación. Dr. Rafael Moreno Sánchez, Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez". | Evaluación de la calidad estudiantil. Dra. Rosa Ma. Valle, Asesora de la Secretaría de Planeación y Evaluación, UNAM | Radicales libres (aspectos generales). Dr. Alberto Huberman, Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán". | Presencia de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C. |
| 9:15-10:45 | Efecto de esteroides en el SNC. Dr. Vicente Díaz, INN "Salvador Zubirán". | | | | |
| RECESO | | | | | |
| 11:00-12:45 | Hormonas proteínicas Mecanismos de acción Dra. Martha Robles, Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina UNAM | Alteraciones estructura-función en mitocondrias. Dr. Alfonso Carabez Trejo, IN, Oro. UNAM | La motivación como parte de la enseñanza en la Bioquímica. Panel de discusión. Coordina Dra. Sara Morales. | Radicales libres y las membranas biológicas. Dr. Edmundo Chávez. Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez". | Celebración del Departamento de Bioquímica en sus 40 años de estar en Ciudad Universitaria. |
| RECESO | | | | | |
| 16:00-19:00 | Aprendizaje basado en problemas (ABP). Taller | Aprendizaje basado en problemas (ABP). Taller | Aprendizaje basado en problemas (ABP). Taller | Aprendizaje basado en problemas (ABP). Taller | Clausura: Dr. Enrique Piña |

RUMBO AL VI CONGRESO Segundo anuncio

Con base en los estatutos de nuestra Asociación, la mesa directiva de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica ha decidido posponer el VI CONGRESO de nuestra Asociación para el próximo año de 1998.

Para ser sede se requiere cubrir los siguientes requisitos:

- Una carta oficial solicitando la sede,
- Trámite con la SEP para solicitar apoyo económico para su realización,
- Definición de un Comité Local de organización y
- Una carta de compromiso en la que se especifiquen los rubros que cubrirá la sede.

Invitamos a los interesados a que manden los resúmenes de sus trabajos que deberán llegar a nuestra mesa editorial antes del 15 de diciembre de 1997.

Mesa Directiva

Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica
Apdo. Postal 70-281, Coyoacán CP 04510, México, D.F.

A LOS LECTORES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

DONATIVO ANUAL 1997

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 (doscientos pesos) o bien \$20.00 US dólares, que hará posible continuar con la elaboración y distribución del volumen 16 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

¿TE INTERESARÍA SER CORRESPONSAL DEL BEB EN TU LOCALIDAD?

Si eres miembro de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica A C o suscriptor del BEB y radicas fuera de la Ciudad de México o de su zona conurbada, TÚ PODRÍAS SER UN CORRESPONSAL DEL BEB. Nos gustaría contar con uno o varios corresponsales adscritos a las instituciones de Educación Superior de cada estado de la República Mexicana que nos permitan saber quiénes conforman la comunidad académica de la región y conocer las noticias y las actividades más relevantes que ocurran o vayan a ocurrir en su localidad o región (congresos, cursos, seminarios, necesidades de recursos humanos y materiales y otras noticias o acontecimientos de tipo académico). Queremos hacer extensiva esta invitación a nuestros colegas de Centro y Sudamérica, así como de otros países de habla hispana.

¿Te ha interesado esta invitación? Entonces envíanos tu propuesta directamente al Coordinador de Corresponsales, Comité Editorial del BEB, Apartado Postal 70-281, México 04510, D F, MÉXICO. O bien al Fax (525) 616 2419 o al correo electrónico sersan@servidor.unam.mx.

Atentamente
Sergio Sánchez Esquivel
Coordinador de Corresponsales
del Comité Editorial del BEB

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

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. ARTÍCULOS DE REVISIÓN

- 1) El artículo deberá enviarse en un disco para computadora, escrito en los procesadores de textos "Winword" o "Wordperfect", con una extensión máxima de 15 cuartillas a doble espacio (27 renglones por cuartilla y 70 caracteres por renglón). Éste deberá ir acompañado de tres 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 últimas 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 Willey 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 impresiones láser 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 páginas. 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, etcétera.
- 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 aceptará 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 tres 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 tres copias de los manuscritos se deberán enviar al Boletín de Educación Bioquímica, Apartado Postal 70-281, México 04510, DF o bien por intermedio del corresponsal del BEB en su localidad.

CONTENIDO

EDITORIAL

EL DR JESÚS MANUEL LEÓN CÁZARES:
EDITOR EN JEFE DEL BEB
DE 1993 A 1996 37

ARTÍCULOS

FUNCIONES ALTERNATIVAS DE LAS
HEMOGLOBINAS
Raúl Arredondo-Peter 39

A 35 AÑOS DEL DESCUBRIMIENTO DE
LAS AFLATOXINAS
Carlos Alberto Ponce Leoportó, Araceli
Florido Segoviano, Carmen Borrego López y
José Víctor Calderón Salinas 47

REGULACIÓN EN LOS MECANISMOS
DE CRECIMIENTO TISULAR
María Genoveva González Morán 53

MODELOS EXPERIMENTALES
FISIOLÓGICOS PARA ESTUDIOS
BIOQUÍMICOS: EL CORAZÓN AISLADO
Y PERFUNDIDO
César Vásquez Galván y Karla Carvajal 61

OTRAS COMUNICACIONES

MICROORGANISMOS: ¿ACASO
PLURICELULARES TAMBIÉN?
Xavier Enoch Hernández Pech 67

VICTORIA CHAGOYA DE SÁNCHEZ:
INVESTIGADORA EMÉRITA DEL
INSTITUTO DE FISIOLOGÍA CELULAR
DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO
Jesús Manuel León Cázares 69

RICARDO TAPIA IBARGÜENGOITIA:
INVESTIGADOR EMÉRITO DEL
INSTITUTO DE FISIOLOGÍA CELULAR
DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO
Jesús Manuel León Cázares 71

UN EDITOR EN JEFE LLAMADO DR LEÓN
Araceli Florido Segoviano y
José Víctor Calderón Salinas 73

CONVOCATORIAS

35 ANIVERSARIO DEL INSTITUTO DE
CIENCIAS BÁSICAS Y PRECLÍNICAS
"VICTORIA DE GIRÓN (ICBPVG)".
LA HABANA, CUBA. 74

SEGUNDO AVISO SOBRE EL XXIV
TALLER DE ACTUALIZACIÓN
BIOQUÍMICA 75

RUMBO AL SEXTO CONGRESO
Segundo anuncio
La Mesa Directiva 77

INSTRUCCIONES PARA LOS
COLABORADORES DEL BOLETÍN
DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 78