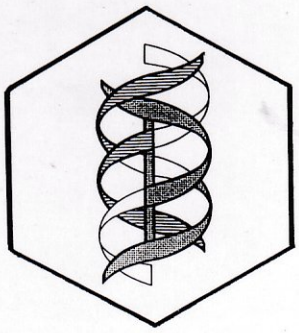
ISSN-0187/294X

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).

Vol. 16 No. 3 SEPTIEMBRE 1997

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"
Facultad de Ciencias Naturales
Universidad Autónoma de Querétaro

JAIME MAS OLIVA
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** (Indice 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. Distribuidor: Servicio Postal Mexicano, Reg No PP-PROV-DF-119-95; UNAM-Depto de Bioquímica y Facultad de Medicina.

EDITORIAL

LA SOCIEDAD MEXICANA DE BIOQUÍMICA CUMPLE 40 AÑOS

El 1º de julio de 1957 un pequeño grupo de 14 jóvenes bioquímicos se reunió en el Aula Genaro Escalona del Hospital de Enfermedades de la Nutrición para firmar el Acta Constitutiva con la que fundaron una sociedad de carácter científico y cultural dedicada al estudio y fomento de la Bioquímica en México. A esta reunión asistieron Barbarín Arreguín, Guillermo Carvajal, Joaquín Cravioto, Carlos del Río, Silvestre Frenk, Mario García, Jesús Guzmán, Jesús Kumate, Guillermo Massieu, Efraín Pardo y Edmundo Téllez, junto con Guillermo Soberón, quien fue el primer Presidente de la Sociedad, Emundo Calva, quien fue electo Vicepresidente, José Laguna, quien fue el primer Secretario Tesorero y Raúl Ondarza, quien fue electo Subsecretario Tesorero. La creación de la Sociedad Mexicana de Bioquímica fue la formalización de una actividad académica que este grupo de científicos venía realizando semanalmente al reunirse en seminarios en los que se presentaba el trabajo que cada uno de ellos realizaba en su laboratorio de investigación. En estas reuniones no sólo se discutían temas científicos sino que además era posible intercambiar reactivos y establecer préstamos de equipos y discutir sobre nuevas técnicas y métodos de análisis, algo similar a lo que ocurre hoy en día en los seminarios departamentales e institucionales de las dependencias en las que hacemos investigación.

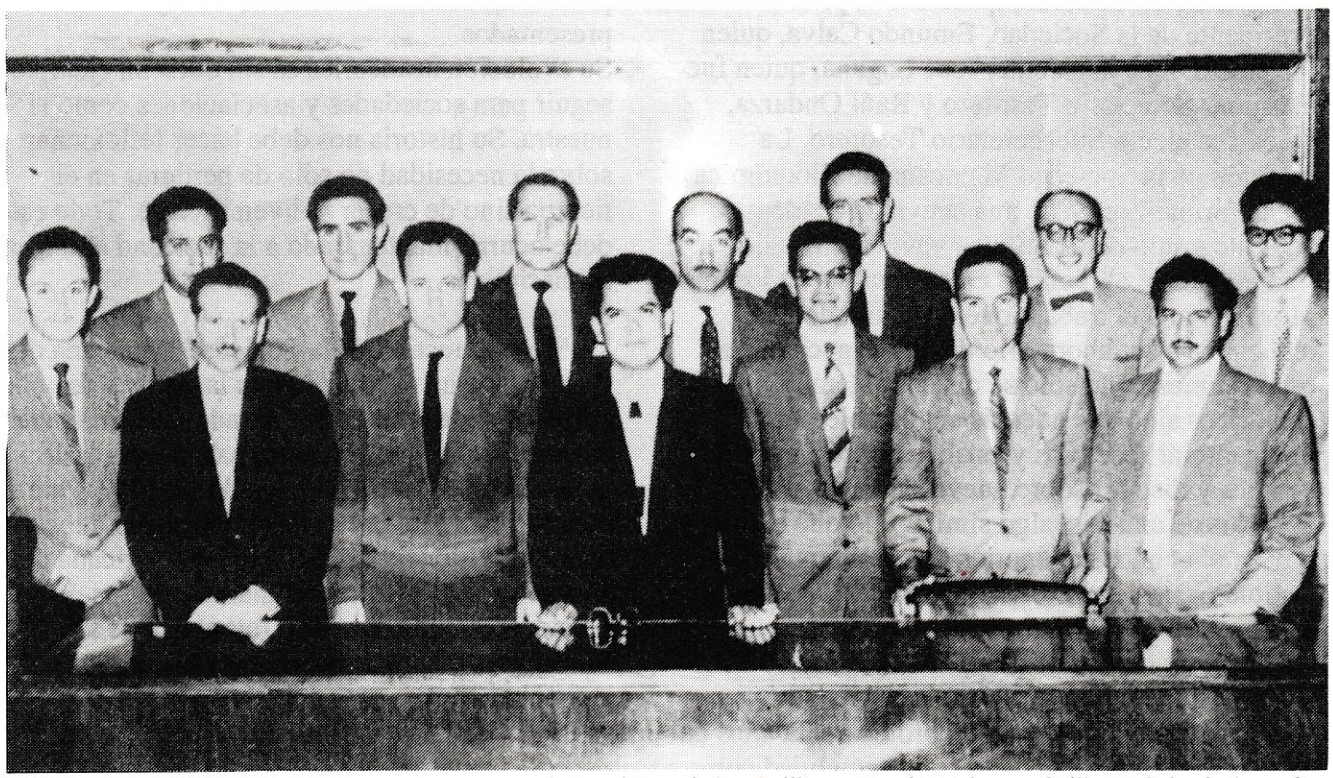
El pasado 1º de julio de 1997 la Sociedad Mexicana de Bioquímica celebró cuarenta años de haber sido fundada. Cuenta en la actualidad con un total de 548 miembros: 330 miembros numerarios y 218 miembros estudiantes, que se agrupan en varias ramas de la bioquímica. La sociedad organiza un congreso cada dos años y en los años alternos las distintas ramas realizan congresos que se centran en los intereses específicos de cada una de ellas. El vigor de esta sociedad se refleja en estas reuniones académicas a las que asiste un gran número de participantes que con frecuencia excede al número total de miembros numerarios. Desde el primer Congreso de la Sociedad es costumbre que asistan como invitados investigadores internacionales de primer nivel a presentar sus trabajos y a discutir con los ponentes nacionales sobre los trabajos presentados.
Su evolución académica es sin duda un ejemplo a seguir para sociedades y asociaciones como la nuestra. Su historia nos debe hacer reflexionar sobre la necesidad no sólo de perdurar en el tiempo sino de crecer y diversificarse. Todo esto debe ocurrir manteniendo a la sociedad al día en su disciplina.

La Mesa Directiva de la Sociedad Mexicana de Bioquímica ha recaído en una larga lista de personalidades dentro del mundo de las ciencias biomédicas del país, quienes han sabido darle continuidad al esfuerzo iniciado en 1957. Para concluir con este breve reconocimiento a los 40 años de existencia de la Sociedad Mexicana de Bioquímica, presentamos una lista de sus presidentes, junto con una fotografía de sus fundadores y un facsímil de las firmas que aparecieron en su acta constitutiva.

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

PRESIDENTES DE LA ASOCIACION MEXICANA DE BIOQUÍMICA

1957-1959	Dr Guillermo Soberón Acevedo	1977-1979	Dr Jorge Cerbón Solórzano
1959-1961	Dr Edmundo Calva Cuadrilla	1979-1981	Dr Manuel V Ortega Ortega
1961-1963	Dr Jesús Kumate Rodríguez	1981-1983	Dr Antonio Peña Díaz
1963-1965	Dr Guillermo Carvajal Sandoval	1983-1985	Dr José Ruiz Herrera
1965-1967	Dr José Laguna García	1985-1987	Dr Carlos Gómez-Lojero
1967-1969	Dr Raúl N Ondarza Vidaurreta	1987-1989	Dr Enrique Piña Garza
1969-1971	Dr Guillermo Massieu Helguera	1989-1991	Dr J Adolfo García Sainz
1971-1973	Dr Fernando Bastarrechea Avilés	1991-1993	Dr Edmundo Calva Mercado
1973-1975	Dr Sergio Estrada Orihuela	1993-1995	Dr Alfonso Cárabez Trejo
1975-1977	Dr Jaime Martuscelli Quintana	1995-1997	Dr Federico Sánchez Rodríguez



Socios Fundadores (1957). Primera fila de izq. a der.: Mario García Hernández, Guillermo Massieu Helguera, Guillermo Soberón Acevedo, Guillermo Carvajal Sandoval, Edmundo Calva Cuadrilla, Barbarín Arreguín Lozano, Joaquín Cravioto Muñoz. Segunda fila de izq. a der.: Jesús Guzmán García, Carlos del Río Estrada, Raúl Ondarza Vidaurreta, José Laguna García, Silvestre Frenk Freund, Efraín Pardo Codina, Jesús Kumate Rodríguez.

Presidente

Dr. Guillermo Soberón

Vicepresidente (presidente electo)

Dr. Edmundo Calva

Secretario tesorero

Dr. José Laguna

Subsecretario (Shio. tesorero electo)

Dr. Raúl Ondarza

Dr. Barbarín Arreguín

Dr. Guillermo Carvajal

Dr. Joaquín Chapiotto

Dr. Carlos del Río

Dr. Silvestre Frenk

Dr. Mario García

Dr. Jesús Guzmán

Dr. Jesús Kumate

Dr. Guillermo Massieu

Dr. Efraín Pardo

Quím. Edmundo Téllez Girón

LOS GENES *RAS*, EL CICLO CELULAR Y EL DESARROLLO DE TUMORES

Carla Santana y Alejandro García Carrancá. Departamento de Biología Molecular, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Apartado Postal 70-228, 04510, México, D.F. Tel. (52 5) 622 3891 y 616 1602, FAX (52 5) 550 0048, email: carranca@servidor.unam.mx

RESUMEN

Los genes *ras* codifican proteínas conservadas que pertenecen a una familia extensa de GTPasas, la llamada familia de las proteínas G, y que funcionan como componentes críticos en cascadas de transducción de señales iniciadas por diversos factores de crecimiento y de diferenciación. En los últimos años se ha descubierto una gran complejidad en estas cascadas, ahora se sabe que las proteínas Ras tienen más de una proteína efectora (Raf, la fosfatidilinositol-3-OH cinasa, las proteínas Rho/Rac, etc.) y que cada una de ellas activa cascadas diferentes de señalización. También, que existe una regulación cruzada entre las cascadas mediadas por Ras y otras vías de transducción, e incluso, recientemente se ha mostrado que las proteínas Ras participan de manera importante en el control del ciclo celular. Actualmente se sabe que la función de Ras se requiere en al menos tres puntos diferentes de control del ciclo celular (salida de G_0, salida de G_1 y entrada a S, y salida del ciclo para la diferenciación). Incluso, existen evidencias que indican que también participa en el punto de control G_2/M. Los modelos actuales suponen que las proteínas Ras transducen sus señales independientemente de la hidrólisis del GTP. Es decir, que dado que el flujo de señales no requiere de la hidrólisis del GTP, las formas oncogénicas de Ras, que no hidrolizan GTP y por ello están permanentemente activas, transducen señales de manera continua. Nosotros proponemos que la función correcta de las proteínas Ras depende no sólo de su activación al unir GTP, sino también de la hidrólisis del mismo y por lo tanto, las formas mutadas de estas proteínas estarían incapacitadas para modular correctamente el flujo de señales y por ello, no podrían controlar adecuadamente eventos del ciclo celular y decisiones importantes de las células que desembocarían en un crecimiento descontrolado, propio de los tumores malignos.

PALABRAS CLAVE: Ras, transducción de señales, ciclo celular, oncogenes, tumores, proliferación, diferenciación, hidrólisis de GTP, GTPasas.

ABSTRACT

ras genes codify conserved proteins that belong to an extended family of GTPases, the so-called G proteins. They belong to a family whose products function as critical components in the signal transduction pathways of many growth and differentiation factors. In recent years the complexity of these pathways has been uncovered; now we know that Ras proteins have more than one effector molecule (Raf, phosphatidilinositol-3-OH kinase, Rho/Rac proteins, etc.), each one of them activating different signaling pathways. Even more, it has been recently shown that these proteins play key roles in the cell-cycle control, specifically at the G0/G1 and G1/S restriction points, and during commitment to differentiation. In addition, there are recent evidences indicating that Ras also participates in the control of the G2/M restriction point

We discuss the fact that current models for Ras function rely on the concept that signals are transduced independently of GTP hydrolysis and as result, oncogenic Ras proteins a persist in their active state due to their inability to hydrolyze GTP and transduce signals much longer. We propose that if appropriate signal transduction by Ras proteins is dependent on GTP hydrolysis, then oncogenic mutants would be unable to appropriately transduce signals due to their known inability to hydrolyze GTP. Then, uncontrolled growth in the presence of oncogenic Ras proteins should result from their inability to appropriately transduce signals controlling critical growth and cell-cycle events.

KEY WORDS: Ras, proliferation, cell differentiation, GTPases, GTP hydrolysis, cell-cycle, signal transduction.

INTRODUCCIÓN

El cáncer es una enfermedad que resulta fundamentalmente de la acumulación de daños en genes cuyos productos participan en procesos celulares como la proliferación, la diferenciación y la muerte celular. Estos genes pueden dividirse en dos clases: los oncogenes, que estimulan la progresión celular a través del ciclo, y los genes supresores de tumores, que son en general reguladores negativos de la proliferación e inducen la diferenciación.

Los oncogenes son versiones mutadas de genes normales, llamados proto-oncogenes y codifican proteínas que funcionan como factores de crecimiento, receptores de éstos, moléculas transductoras de señales y factores de transcripción. Los proto-oncogenes se transforman en oncogenes por alteraciones que incluyen mutaciones puntuales, amplificaciones, inserciones virales y translocaciones cromosómicas, todos ellos cambios que resultan en un incremento en la actividad del producto génico. Los oncogenes son dominantes pues generalmente se requiere la alteración de sólo uno de los alelos de una célula diploide para inducir transformación celular. Los genes supresores, a diferencia de los oncogenes, son recesivos ya que se requiere de la inactivación de ambos alelos para que se manifieste su efecto transformante.

GENES Y PROTEÍNAS *RAS*

Los miembros de la familia *ras* son los proto-oncogenes que más frecuentemente se encuentran alterados en tumores sólidos humanos; la frecuencia varía alrededor del 30% y en algunos casos, como los adenocarcinomas pancreáticos y de pulmón, supera el 50% (1).

En los humanos existen tres genes *ras* funcionales: H-*ras*-1, K-*ras*-2 y N-*ras* que codifican proteínas homólogas, con un peso molecular de 21 kDa. Existen además dos pseudogenes: H-*ras*-2 y K-*ras*-1 (1). Si bien la estructura de estos genes es distinta, la de sus productos está altamente conservada.

Las proteínas Ras pertenecen a una familia muy extensa de GTPasas, la familia de proteínas G, que participa en el control de una gran variedad de procesos celulares e incluye, además de la superfamilia Ras, algunas proteínas involucradas en síntesis de proteínas (factores de iniciación y elongación) y las proteínas G heterotriméricas (2). Estas proteínas, como todas las GTPasas, son moléculas que unen e hidrolizan GTP y funcionan como interruptores con dos conformaciones: un estado inactivo, unido a GDP, y un estado activo, unido a GTP.

El recambio entre las formas activa e inactiva se encuentra regulado principalmente por tres diferentes clases de factores: proteínas activadoras de GTPasas (GAPs), factores intercambiadores de nucleótidos de guanina (GEFs) e inhibidores de la disociación de nucleótidos de guanina (GDIs). La activación de Ras involucra el intercambio de GDP por GTP, el cual está dado por los GEFs, entre los que se encuentra Sos, y está regulada negativamente por los GDIs (2). Las proteínas Ras tienen una capacidad intrínseca muy baja para hidrolizar GTP, pero el proceso es acelerado de manera muy significativa por las proteínas GAP (Figura 1). La función de las proteínas Ras también se regula mediante el anclaje específico a la membrana citoplasmática, pues la localización intracelular determina posibles interacciones con proteínas activadoras, reguladoras, o efectoras. Para ello, se requieren modificaciones postranscripcionales que incluyen la prenilación (unión covalente de un lípido isoprenoide, en este caso un grupo farnesilo, 15 carbonos) de un residuo de cisteína en el extremo carboxilo terminal y la hidrólisis de los últimos tres aminoácidos (2).

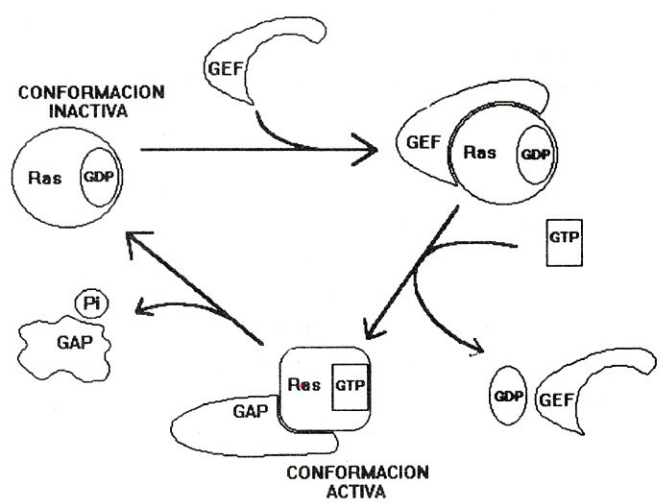


Figura 1. Esquema de los factores que intervienen en la activación y desactivación de las proteínas Ras. Los factores intercambiadores de nucleótidos de guanina (GEF) provocan el recambio de GDP a GTP, activando así a la proteína Ras. Las proteínas activadoras de GTPasa (GAPs) favorecen la hidrólisis de GTP, regresando a Ras a su forma inactiva.

Las proteínas Ras adquieren la capacidad de inducir la transformación celular por el cambio de uno sólo de sus aminoácidos. Las mutaciones transformantes de estos genes ocurren en los codones 12, 13, 59, ó 61, siendo las de los codones 12 y 61 las que se encuentran con mayor frecuencia en los tumores humanos (1). Estas mutaciones provocan cambios de aminoácidos que se encuentran en el sitio activo de la proteína y por ello afectan profundamente su función, pues resultan en la permanencia de las formas activas al impedir la hidrólisis necesaria del GTP.

Se piensa que la función básica de estos interruptores moleculares permite regular la transmisión de señales del exterior, a efectores que se encuentran corriente abajo en la cascada de señalización. Cuando se recibe una señal extracelular, las proteínas Ras intercambian GDP por GTP y adquieren una conformación diferente, "activa", que les permite interaccionar con sus efectores para transmitir la señal. Es obvio que esta interacción termina cuando ocurre la hidrólisis del GTP. Las formas oncogénicas afectan profundamente el funcionamiento normal de las proteínas Ras, pues rompen el equilibrio entre sus formas inactiva y activa al impedir que ocurra la hidrólisis normal del GTP. Actualmente se acepta que la estabilización de las formas oncogénicas, en su estado activo unido a GTP, provoca un flujo continuo de señalización que resulta en la transformación maligna de las células. Así pues, si bien está claro que el estado activo perdura hasta que el GTP es hidrolizado, no lo está tanto el que la señalización ocurra independientemente de la hidrólisis del GTP (Figura 2). Es decir, para nosotros no es claro que las formas activas transduzcan las señales en un proceso que no está acoplado a la hidrólisis del GTP. En este caso, la incapacidad para hidrolizar el GTP no afectaría la función de estas proteínas. Por el contrario, si el flujo de señales va asociado a la hidrólisis del GTP entonces, las formas oncogénicas estarían incapacitadas para transducir señales de manera adecuada y, por lo tanto, para funcionar correctamente.

De acuerdo al modelo propuesto por nosotros, la incapacidad de las formas oncogénicas para hidrolizar GTP afectaría profundamente su función pues resultaría en la ausencia de una modulación de la señal, que traería como consecuencia final la transformación maligna. En este modelo suponemos que la hidrólisis del GTP está asociada íntimamente al flujo de las señales regulatorias y que las proteínas Ras forman parte fundamental de dispositivos de seguridad, que resultan vitales para el control del ciclo celular, la proliferación y la diferenciación.

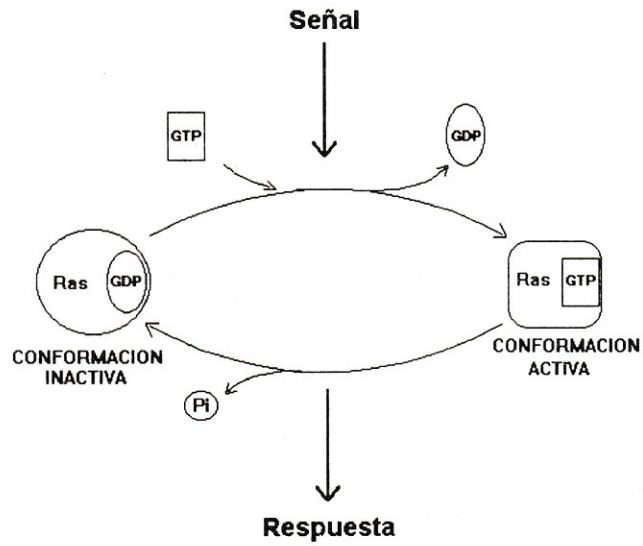


Figura 2. Modelo que ilustra la hipótesis de que la hidrólisis del GTP acompaña la transducción de las señales. El modelo actual postula que la señalización ocurre cuando Ras esta unido al GTP, independientemente de su hidrólisis. Sin embargo, es posible que la transducción correcta de las señales requiera de la hidrólisis del GTP. De ser así, las formas mutadas de Ras que no hidrolizan el GTP transducirían señales incompletas o inapropiadas. Esta ausencia correcta de la función contribuiría al efecto oncogénico de las mutantes incapaces de hidrolizar el GTP.

PARTICIPACIÓN DE *RAS* EN LA TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES EXTRACELULARES

Las proteínas Ras funcionan como componentes críticos en cascadas de transducción de señales iniciadas por la estimulación de diversos receptores. Los ligandos tales como el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento tipo insulina (IGFI), el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), el factor de crecimiento nervioso (NGF) entre otros, se unen a sus receptores y provocan su dimerización y autofosforilación al estimular su actividad de tirosina-cinasa. Las tirosinas fosforiladas de los receptores son reconocidas con alta afinidad por proteínas con dominios tipo SH2 (de homología con el dominio tipo 2 de la proteína

Src), los cuales son secuencias conservadas, de aproximadamente 100 aminoácidos, que se encuentran en moléculas que participan en diversas vías de señalización. Cuando las células son estimuladas por diversos factores, el complejo Grb2/Sos (los dominios SH3 de Grb2 se unen a una región rica en prolina que se encuentra en el extremo carboxilo-terminal de Sos) que está presente en el citosol en células no estimuladas se une al receptor activado a través de Grb2, mediante sus dominios SH2, lo que resulta en acercar a Sos (un GEF de Ras) a la membrana plasmática el cual provoca la activación de Ras al promover el intercambio de GDP por GTP (3, ver Figura 3).

Una vez que Ras ha sido activado por Sos interacciona con una seril/treonil cinasa llamada Raf, la cual a su vez fosforila y activa a la cinasa de la cinasa MAP (proteína activada por mitógenos), conocida también como MEK o MAPKK. MEK fosforila residuos de treonina y tirosina de la cinasa MAP (MAPK), activando así también su función de cinasa. Esta última cinasa, también conocida como ERK (cinasa regulada por señales extracelulares) activa a enzimas como la seril/treonil cinasa $p90^{rsk}$ y la fosfolipasa A2 (citosólica), y se introduce al núcleo donde fosforila factores de transcripción como c-Myc, Elk-1 y c-Jun (4-6).

Además de Raf, se sabe que las proteínas GAP y la fosfatidilinositol-3-OH cinasa (PI(3)K) son también moléculas efectoras de Ras. Así mismo, las proteínas de la familia Rho/Rac (que también pertenecen a la superfamilia de Ras) son reguladas por Ras a través de las proteínas reguladoras GEFs y GAPs (p120-GAP al parecer es un efector directo de Ras). Las proteínas Rho/Rac también son componentes esenciales en las vías de transducción de señales pues unen el efecto de factores de crecimiento con la organización del citoesqueleto mediante la formación de fibras de actina, focos de adhesión y crestas en la superficie de las células (7, 8).

Diversos estudios indican una regulación cruzada entre algunas vías de transducción y la cascada mediada por Ras. Por ejemplo, se sabe que los receptores para trombina y acetilcolina, que están acoplados a proteínas G heterotriméricas, pueden regular positiva o negativamente la cascada Ras/Raf/ERK2 (9).

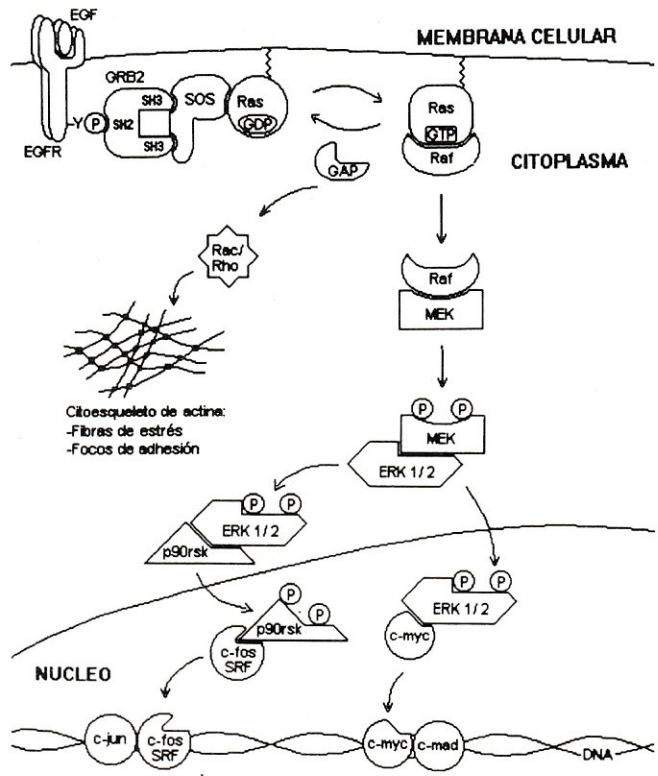


Figura 3. Esquema de la cascada de transducción de señales en la que participa Ras. La unión de un ligando a su receptor provoca la activación del mismo y su autofosforilación, el complejo Grb2/Sos (GEF de Ras) se une al receptor fosforilado. El complejo activa a la proteína Ras y ésta a su vez estimula dos vías de señalización. Por un lado, la cascada de las MAP cinasas (proteínas activadas por mitógenos) que llegan hasta el núcleo activando factores de transcripción, como jun, fos, myc, que promueven la expresión de determinados genes involucrados en proliferación y por el otro lado a las proteínas Rho/Rac, las cuales a su vez producen cambios en el citoesqueleto de actina. EGF, factor de crecimiento epidérmico; EGFR, receptor del factor de crecimiento epidérmico; GAP, proteína activadora de GTPasa; MEK, cinasa de ERK1/2; ERK, cinasa regulada por señales extracelulares; SRF, factor de respuesta al suero.

PARTICIPACIÓN DE *RAS* EN EL CICLO CELULAR

Se sabe que la función de Ras es requerida al menos en tres puntos diferentes de control del ciclo celular: en la salida de G_0, en la transición G_1/S, y en la entrada a la diferenciación. Las siguientes observaciones ilustran algunos efectos de alteraciones en las vías de Ras, sobre el ciclo celular. La microinyección de H-Ras a células quiescentes NIH-3T3 provoca su transición a G_1 y el inicio de la replicación; la microinyección de anticuerpos anti-Ras bloquea la respuesta mitogénica de células NIH-3T3 al suero, pues éstas no entran a la fase S y, finalmente, la microinyección del oncogen Ras induce la diferen-

ciación de la línea celular PC12, derivada de un feocromocitoma de rata, a neuronas (10, 11). Además, el hecho que Ras es requerido para la transducción de señales de PDGF así como de EGF refleja que su activación es requerida tanto en el punto G_0/G_1, como en el G_1/S (12; Figura 4).

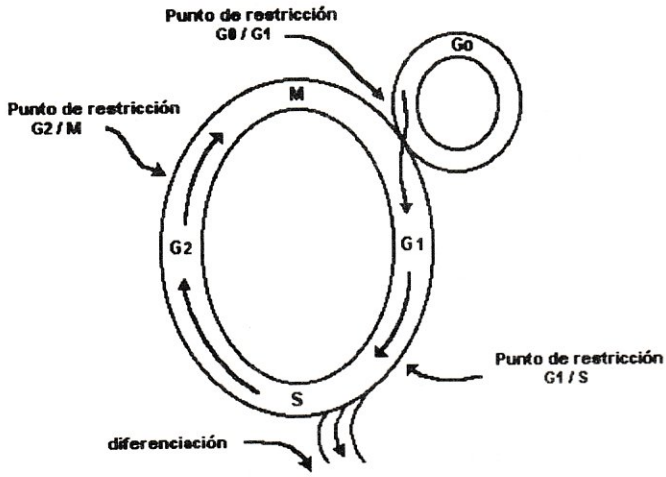


Figura 4. Esquema que muestra los diversos puntos donde se requiere Ras a lo largo del ciclo celular. El hecho de que Ras parece participar en todos los puntos de restricción indica que su función es vital en el control de este proceso.

Si bien muchos estudios se han concentrado en los puntos de restricción antes mencionados, cada vez existen más evidencias que indican que la transición G_2/M, que controla que las células muy pequeñas o que no han terminado de replicar su DNA no entren a mitosis, es otro punto de regulación importante por Ras. Por ejemplo, la inactivación de un gen v-K-*ras* termosensible en células que se encuentran en la fase S del ciclo celular provoca su arresto en G_2, bloqueo que únicamente se puede revertir con la reactivación de la proteína Ras (13). Por otro lado, se ha reportado que la sobreexpresión del oncogen *H-ras* induce un arresto celular en G_2/M. La co-transfección del oncogen H-ras y una mutante termosensible del antígeno T de SV40 a fibroblastos de embrión de rata o a células embrionarias de Schwann (células gliales del sistema nervioso periférico) provoca que a la temperatura permisiva se produzca transformación celular, mientras que a la temperatura no-permisiva se produce arresto celular tanto en g_1/S como en G_2/M. El arresto en G_2/M es dependiente de los niveles de expresión de H-*ras*; si los niveles son bajos se produce inmortalización celular y, si los niveles son elevados, hay muerte celular (14). Además, estudios realizados en nuestro laboratorio muestran que la expresión inapropiada de H-*ras* induce muerte mitótica en células HeLa. En las células transfectadas con el oncogen H-*ras* observamos la aparición de células gigantes multinucleadas con alteraciones morfológicas que culminan en su muerte, probablemente como consecuencia de una catástrofe mitótica por problemas en la cariocinesis y la citocinesis. (15).

En los mamíferos, las proteínas Ras se expresan a bajos niveles en casi todos los tipos celulares. En la mayoría de los linajes, los niveles de expresión son significativamente más altos en células inmaduras que en las diferenciadas. Sin embargo, los niveles elevados de expresión no siempre correlacionan con la proliferación celular. En ciertos tipos celulares que se encuentran en diferenciación terminal como son células epiteliales de las glándulas endocrinas y las neuronas del sistema nervioso central la expresión de Ras es elevada, por lo que las proteínas Ras parecen participar tanto en la proliferación como en la diferenciación celular, dos procesos que se sabe son de alguna manera mutuamente excluyentes (1,10,11).

Estudios recientes apoyan la idea de que un elemento importante que determina la respuesta de una célula a las señales externas proliferando o diferenciándose, es la duración de dicha señal. El tratamiento de células PC12 con NGF (factor de crecimiento nervioso) o con EGF (factor de crecimiento epidérmico), produce diferenciación o proliferación, respectivamente. La activación por ambos factores, al parecer utiliza la misma vía de transducción de señales, en la cual participan Ras y las MAP cinasas. Sin embargo, se han encontrado diferencias entre las señales de estos factores, pues mientras que la estimulación con NGF resulta en una elevación persistente de Ras-GTP y una activación sostenida de ERK, la estimulación con EGF produce sólo una elevación momentánea de Ras-GTP y una activación transitoria de ERK. Por lo tanto, mientras que una activación prolongada de la vía Ras compromete a las células PC12 a diferenciarse, la activación transitoria resulta en su proliferación. Esto es consistente con el hecho que la transfección del oncogen Ras a células PC12 produce diferenciación, lo cual es esperado si la forma oncogénica de Ras produce

una activación prolongada de ERK. Las diferencias en la activación de ERK, al parecer se traducen en diferencias cualitativas en la activación de algunos factores de transcripción y por lo tanto en la expresión de genes. Por tanto, es posible que genes con promotores que contienen sitios con baja afinidad para un factor de transcripción, sólo se expresen cuando el factor de transcripción activado se encuentre en niveles altos, mientras que aquellos que tienen sitios con una alta afinidad se expresen con niveles muy bajos del factor de transcripción activado (16).

CONCLUSIÓN

Es difícil dilucidar aún cómo es que Ras participa en varios puntos de control del ciclo celular y sobretodo cómo es que regula procesos tan opuestos como son la proliferación y la diferenciación. Una manera de explicarlo es proponiendo la existencia de diversas vías efectoras de Ras, que sean únicas para cada punto de control. Esto se encuentra apoyado por la existencia de diversos efectores de Ras, por la presencia de diferentes isoformas de las cinasas MAP y por las interconexiones de diversas vías de señalización que regulan de manera diferente las vías dependientes de Ras. Lo anterior permitiría a las células tener una variedad de combinaciones, cada una de ellas determinaría un punto particular de regulación controlando de diferente manera la expresión de genes específicos para cada fase del ciclo celular.

El hecho de que las proteínas Ras se encuentren involucradas en las vías de transducción de señales de diversos factores de crecimiento, así como el hecho de que sean componentes muy importantes de las decisiones de la célula que la llevan no sólo a proliferar o diferenciarse, sino que una vez que prolifera también decide si va a continuar ciclando, o va a detener su división, las coloca en una posición crítica y de tal importancia que su funcionamiento inapropiado contribuye de manera decisiva al desarrollo de tumores en los humanos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM y a la Fundación Miguel Alemán el apoyo recibido para realizar sus investigaciones.

REFERENCIAS

1. Barbacid M (1987). Ras genes. Annu Rev Biochem *56*:779-827.
2. Boguski M S y McCormick F (1993). Proteins regulating Ras and its relatives. Nature *366*:643-654.
3. McCormick F (1993) How receptors turn Ras on. Nature *363*:15-16.
4. Avruch J, Zhang X-F y Kyriakis J M (1994) Raf meets Ras: completing the framework of a signal transduction pathway. Trends Biochem Sci *19*:279-283.
5. Marx J (1993) Forging a Path to the Nucleus. Science *260*:1588-1590.
6. Marshall C J (1994) MAP kinase kinase kinase, MAP kinase kinase and MAP kinase. Curr Op Genet Dev *4*:82-89.
7. Bar-Sagi D y Feramisco J R (1986) Induction of membrane ruffling and fluid-phase pinocytosis in quiescent fibroblasts by ras proteins. Science *233*:1061-1068.
8. Prendergast G C y Gibbs J B (1993) Pathways of Ras function: connections to the actin cytoskeleton. Adv Cancer Res *62*:19-64.
9. Burgering B M T y Bos J L (1995) Regulation of Ras-mediated signalling: more than one way to skin a cat. Trends Biol Sci *20*:18-22.
10. Mulcahy L S, Smith M R y Stacey D W (1985) Requirement for ras proto-oncogene function durin serum-stimulated growth of NIH 3T3 cells. Nature *313*:241-243.
11. Bar-Sagi D y Feramisco J R (1985) Microinjection of the ras oncogene protein into PC12 cells induces morphological differentiation. Cell *42*:841-848.
12. Moodie S A y Wolfman A (1994) The 3Rs of life: Ras, Raf and growth regulation. Trends Genet *10*:44-48.
13. Durkin J P y Whitfield J F (1987) The viral Ki-ras gene must be expressed in the G2 phase if ts Kirsten sarcoma virus-infected NRK cells are to proliferate in serum-free medium. Mol Cell Biol *7*:444-449.
14. Hirakawa T y Ruley H E (1988) Rescue of cells from ras oncogene-induced growth arrest by a second, complementing, oncogene. PNAS *85*:1519-1523.
15. Miranda E I, Santana C, Rojas E, Hernández S, Ostrosky-Wegman P, García Carrancá A (1996) Induced mitotic death of HeLa cells by abnormal expression of c-H-ras. Mut Res *349*:173-182.
16. Marshall C J (1995) Specificity of receptor tyrosine kinase signaling: transient versus sustained extracellular signal-regulated kinase activation. Cell *80*:179-185.

ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR PRIONES

Jaime Parés Hipólito* y José Víctor Calderón Salinas**. *Departamento de Farmacología, Escuela Militar de Graduados de Sanidad, Secretaria de la Defensa Nacional. **Departamento de Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados-IPN.

RESUMEN

Las encefalopatías espongiformes transmisibles (EET), son padecimientos neurológicos causados por proteínas llamadas priones. En algunas ocasiones, estas enfermedades muestran un patrón de transmisión especie-especie y entre especies compatible con un fenómeno infeccioso, mientras que en otras se han encontrado factores genéticos. Los hallazgos histopatológicos más sobresalientes son la lisis neuronal y la presencia de halos que semejan una esponja, en donde se ha encontrado la acumulación de la proteína llamada PrPsc, siglas de "prion protein scrapie", que a diferencia de la PrPc, "prion protein cellular" normal, es insoluble y resistente a las proteasas. El gen de la PrPc se encuentra en todos los mamíferos en el brazo corto del cromosoma 20 y aunque se desconoce la función de la proteína, se ha observado que la pérdida del gen está asociada con déficit neurológico. Se ha sugerido que las mutaciones en el gen de la PrPc pueden inducir la formación de la PrPsc. Este gen se replica y provoca el incremento en la síntesis de la proteína PrPsc. En los últimos tres años la encefalopatía espongiforme bovina (EEB), comunmente llamada "enfermedad de las vacas locas", ha provocado grandes pérdidas a los ganaderos en el Reino Unido y ha traído nuevamente a discusión si es posible la transmisión animal-hombre. En el presente trabajo resumiremos lo que ahora se conoce de las enfermedades producidas por priones.

PALABRAS CLAVE: priones, encefalitis espongiformes, virus lentos.

ABSTRACT

Transmissible spongiform encephalopathies (TSE) are neurological diseases caused by prion proteins. Occasionally this diseases are a transmission form species-species and between species as infectious phenomena. In other occasions these diseases present genetic factors. The most outstanding histopathology findings are neuronal lysis and halos like sponge, in which a scrapie prion protein (PrPsc) is accumulated. This protein, contrary to the normal prion protein cellular (PrPc), is insoluble and resistant to proteases. The PrPc gene is in the small arm of chromosome 20. Its function is not known but its lost is associated with neurological deficiency. Mutations in the PrPc gene may induce the formation of the PrPsc protein. In the last 3 years the bovine spongiform encephalopathye (BSE) commonly known as "mad-cow disease" has caused graet losses in the cattle in the UK an it has provoked again the discussion if the animal-human transmission is possible. In the present work we will summarize what is known about the prion produced diseases.

KEY WORDS: prion, spongiform encephalopathy.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades causadas por priones en humanos y animales, han despertado el interés de diversas áreas de la investigación biomédica debido a la repercusión que uno de estos padecimientos ha tenido en la economía, la ganadería y hasta en la política internacional.

Estos padecimientos se manifiestan, en el humano, en forma de entidades fisiopatológicas, tales como: el kuru, la enfermedad de Creutzfeld-Jakob (ECJ), el síndrome de Gerstmann-Straussler-Scheinker (SGSS) y el insomnio familiar mortal. Estas enfermedades se denominan en común como encefalopatías espongiformes transmisibles o amiloidosis cerebrales infecciosas, debido a las características histológicas que presentan y a su patrón de transmisión (1).

En los animales se presentan en forma de entidades patológicas, tales como el "scrapie" en ovejas y

en cabras, la encefalopatía transmisible del visón, la enfermedad crónica desgastante de mulas y venados, y la encefalopatía espongiforme bovina (enfermedad de las vacas locas).

Las EET humanas difieren en su comportamiento epidemiológico. La ECJ se presenta en forma esporádica predominantemente y sólo en el 10 % de los casos se encuentra un componente hereditario; el SGSS tiene patrón hereditario bien definido, transmitiéndose en forma autosómica dominante, mientras que el kuru es infeccioso. El periodo de incubación varía de meses a años dependiendo de la dosis, la vía de inoculación, la variedad de la proteína prión infectante y la genética de la especie inoculada. La sobrevida en este tipo de padecimientos es de 2 meses a 5 años. Las manifestaciones tempranas consisten en alteraciones cerebelares y las tardías en signos piramidales y demencia, en la mayoría de los casos. El diagnóstico clínico es muy difícil, realizándose muchas veces por exclusión y sólo cuando el padecimiento está muy avanzado.

ENFERMEDAD DE CREUTZFELD-JAKOB

La forma más frecuente y por ende la más estudiada en los humanos es la ECJ, descrita por primera vez en los inicios de la década de los años 20, en un grupo de pacientes de hospitales alemanes que presentaban similares alteraciones del sistema nervioso central y de origen desconocido. El total de los individuos desarrollaron problemas neurológicos graves, con un desenlace fatal poco después del inicio de los sintomas (2 a 5 meses); la búsqueda epidemiológica llevó a la conclusion de que era probable que existiera un periodo de incubación de 30 años. En 1974, 50 años despues, se comprobó la transmisibilidad humano-humano de esta enfermedad (1).

La ECJ se presenta en 4 formas clinicas: 1) familiar, relacionada con mutaciones en el gen de la PrPc, con alteración en el cromosoma 20; los pacientes son homocigotos para metionina o valina y las mutaciones pueden ser en el codón 200 (glutamina por lisina), en el 178 (ácido aspártico por asparagina) o en el codón 129 (valina por asparagina). No hay evidencia de predominio de transmisión de la madre o el padre y se presenta con un patrón autosómico dominante y en promedio 12 años antes que en las otras patologías; los pacientes tienen una sobrevida de 18 meses, después del diagnóstico. 2) adquirida o iatrogénica, se debe a la exposición a material biológico contaminado de pacientes con ECJ; se ha descrito contagio por la utilización de la hormona de crecimiento obtenida de cadáveres y por transplante de córnea de donadores con el mismo padecimiento. La transmisión iatrogénica de ECJ también es posible por vía hematógena, a través del nervio óptico o por inoculación directa en la superficie cerebral. Experimentalmente se ha demostrado la transmisión por la vía oral y por la vía percutánea; sin embargo, no se tiene evidencia clínica de la factibilidad de la transmisión por estas vías. 3) esporádica, la más común de las variedades, tiene un origen desconocido y se presenta con una incidencia de 1 en 1,000,000 cuando se presenta después de los 40 años y de 1 en 20,000,000 cuando comienza antes de los 40 años; afecta por igual a los hombres y a las mujeres. Los casos esporádicos son homocigotos en el residuo polimórfico 129. 4) trasmisión entre especies, esta forma es atribuida principalmente a la ingestión de productos bovinos contaminados con EEB, proponiéndose como contagio especie-especie.

Todas las formas de este padecimiento tienen un inicio gradual, generalmente alrededor de los 60 años, presentándose pérdida de la memoria, signo de Parinaud (parálisis de la mirada conjugada superior) como defecto ocular más común; por lo general un año después de iniciarse los síntomas el paciente muere por infecciones respiratorias o sistémicas; se ha sugerido que el diagnóstico temprano puede realizarse con la electroretinografía y es necesario hacer el diagnóstico diferencial con la enfermedad de Alzheimer.

SÍNDROME DE GERSTMANN-STRAUSSLER-SCHEINKER

El SGGS ocurre en forma familiar y algunos autores la consideran una variante de la ECJ. En este padecimiento predominan las manifestaciones cerebelares sobre el deterioro mental; la duración del padecimiento es hasta 4 años mayor que la ECJ. Consistentemente se ha encontrado la sustitución de prolina por leucina en el codón 102, también se han reportado alteraciones a nivel del codón 117; si estas mutaciones se producen en ratones transgénicos ocurre degeneración del SNC con cambios idénticos a los del "scrapie". Los humanos con SGSS presentan un cerebro macroscópicamente normal; sin embargo, a nivel histológico persiste la tríada de las

EET, que consiste en cambio espongiforme, astrogliosis y lisis neuronal (1).

KURU

El Kuru fue descrito en 1957 como un padecimiento endémico en Nueva Guinea. Está asociado a las prácticas de canibalismo con ingesta de cerebro de humanos, el cual era consumido principalmente por los niños y las mujeres embarazadas. El primer caso transmitido experimentalmente se reportó en 1966. La enfermedad se manifiesta por pérdida de equilibrio, ataxia (pérdida de la capacidad de coordinación de los diversos movimientos entre sí), evolucionando a inanición y neumonía. El fallecimiento se presenta 6 a 9 meses después del inicio de las manifestaciones clinicas de la enfermedad (1).

INSOMNIO FAMILIAR MORTAL

El insomnio familiar mortal se presenta en las edades media y tardía de la vida, en promedio alrededor de los 50 años, con una evolución aproximada de 13 meses; se ha relacionado a mutaciones en el codón 178 (mutación del ácido aspártico por asparagina), similar a lo que ocurre en algunos casos de ECJ familiar. Se transmite en forma autosómica dominante y clínicamente se caracteriza por insomnio intratable, hiperactividad del sistema simpático (hiperhidrosis, hipertermia, taquicardia e hipertensión), trastornos endocrinos (disminución de la secreción de corticotropina, pérdida del ritmo circadiano en la secreción de las hormonas del crecimiento, la prolactina y la melatonina). Las alteraciones del sistema nervioso consisten en: ataxia, disartria, mioclonos, temblor, hiperreflexia y espasticidad. En este padecimiento la demencia no es notable pero, se presentan alucinaciones complejas. En los hallazgos patológicos se encuentra atrofia selectiva de los núcleos talámicos mediodorsal y ventral anterior (2).

ENCEFALITIS ESPONGIFORME EN ANIMALES

Mucho de lo que sabemos actualmente de las EET se debe a que estas enfermedades afectan a los animales y con ello nos ofrecen un excelente modelo de estudio. La principal enfermedad de este tipo en los animales es el "scrapie". El "scrapie" es una enfermedad endémica en varios países, que afecta principalmente a las ovejas y a las cabras como resultado de la ingestión de suplementos dietéticos derivados de ovejas sacrificadas infectadas con "scrapie". El periodo de incubación y los signos clínicos del scrapie varían en diferentes rebaños, dependiendo de factores genéticos y de la variante de la proteína infecciosa. La enfermedad es relativamente silenciosa, en los rebaños infectados menos del 1% de las ovejas muestran síntomas de la enfermedad y afecta a los animales de más de 2 años de edad. Los signos clínicos del "scrapie" se conocen desde hace más de 2 siglos, los primeros signos que se presentan son cambios en el comportamiento, prurito (rascado excesivo) y signos de afección del aparato locomotor. Cuando progresa el padecimiento los animales pierden peso, se debilitan y finalmente mueren (3).

En los animales es difícil detectar el padecimiento y el diagnóstico se realiza ya en etapas avanzadas, generalmente *postmortem*. El periodo de incubación es largo, los animales afectados presentan padecimientos neurológicos progresivos y debilitantes, con cambios patológicos confinados al sistema nervioso central (SNC). La presencia del scrapie en estos casos está asociado a fibrillas en tejido cerebral y a la ausencia de respuesta inmune o inflamatoria detectable, las lesiones son progresivas y simétricas (4).

ENCEFALITIS ESPONGIFORME BOVINA

Se estima que la EEB o enfermedad de las vacas locas afectó a 903,000 animales del periodo de 1974 a finales de 1995 en el Reino Unido (5).

Hasta 1992 se había reportado 36,681 casos de EEB y para 1993 se tenían ya 100,000 casos confirmados; las medidas epidemiológicas provocaron que en 1995 la enfermedad afectara sólo a 14,000 animales. Sin embargo, para 1996, aun cuando se han invertido más de 5 millones de dólares tan solo de 1988-1991 y se han aplicado múltiples medidas de protección epidemiológica, la cifra de casos confirmados aumentó a 161,410.

El periodo de incubación de la enfermedad tiene un promedio de 5 años, la edad a la que se adquiere la infección es de un año, con sobrevida de tres años. Muchos animales que adquirieron la enfermedad no la desarrollaron, probablemente porque entraron a la cadena alimenticia. Se estima que 446,000 animales infectados entraron a la cadena alimenticia antes de 1988 en que se legisló sobre el control sanitario. Para finales de 1995 se cree que hayan entrado 283,000

más. En la década de los 80 y a inicios de la actual, antes de la introducción de las medidas de control, era frecuente que muchos alimentos contuvieran sesos bovinos y otras menudencias. Afortunadamente, no se tienen evidencias de transmisión horizontal (por contacto directo) (6).

En marzo de 1996, se sospecha la posibilidad de la transmisión animal-hombre, debido a un incremento en el Reino Unido de los casos nuevos de EET humana, la variante de la ECJ que afecta a personas jóvenes (19-39 años). Se han presentado 12 casos de esta variante de ECJ hasta agosto de 1996; sin embargo, esta asociación no ha sido, hasta el momento, sino una correlación temporal (7).

Los casos de ECJ esporádico y la nueva variante se distinguen por: la edad en que se inicia (la variante se presenta en jóvenes), todos los pacientes son homocigotos para metionina en el residuo polimórfico 129 del gen de la PrPc, los depósitos forman placas y el patrón de bandas es de tipo 4, similar a la de los macacos y ratones con EEB. La presencia de la forma glicosilada en la nueva variante es la encontrada en la EEB murina experimental y en la EEB transmitida a gatos domésticos y macacos, lo que es consistente con la hipótesis de que esta variante resulta de la transmisión de EEB de animales a humanos (8).

Se ha logrado expresar PrPsc en monos por incubación con tejido infectado de humano. Sin embargo, en ratones transgénicos en los que se ha integrado la información para expresar la PrPsc humana, no se ha logrado la inducción de esta proteína en presencia de priones de bovinos, lo que hace pensar que se requieren de otros factores para producir el daño y la expresión de la proteína anómala, lo cual parece poner en duda la posibilidad de transmisión animal-hombre (9). El agente infectivo del "scrapie" resiste la radiación ionizante y la luz ultravioleta, lo que constituyeron las primeras evidencias de que el agente infeccioso carecía de ácidos nucleicos; sin embargo, la replicación de la proteína anómala era evidente, lo que planteó la pregunta: ¿cómo podía estar sucediendo esta replicación sin ácidos nucleicos?

LA EVOLUCIÓN DEL CONOCIMIENTO

El estudio de los mecanismos patológicos de las EET se inició en la década de los años 30 al descubrirse que el "scrapie" era transmisible, atribuyéndose la enfermedad a un virus. Dos decenios más tarde, en Nueva Guinea la presencia del kuru como padecimiento endémico planteó la posibilidad de componentes hereditarios; poco después, la inoculación de tejido enfermo en el cerebro de diversos animales, permitió obtener un modelo de la enfermedad y mostrar que era transmisible, ya que, después de un año, un chimpancé inoculado presentó las alteraciones neurológicas características de la enfermedad.

En la década de los años 50 se descubrió que la ECJ era un padecimiento transmisible y se propone el origen infeccioso de estas entidades, reportándose el primer caso comprobado de transmisión hombre-hombre en 1974.

Tratando de identificar al agente responsable se realizaron diversos estudios en diferentes laboratorios de investigación, encontrándose una característica común, la ausencia de partículas virales y de ácidos nucleicos como origen de la enfermedad y la continua detección de un polipéptido hidrófobico, resistente a las proteasas y con un peso molecular de 27-30 kDa, el cual, por sí solo, era capaz de reproducir la enfermedad. La ECJ se transmitió experimentalmente en 1968 y la transmisión experimental entre especies se logró en 1992.

En 1982 Prusiner y colaboradores descubrieron y caracterizaron la proteína responsable de producir el "scrapie", propuesta desde 1967 por Griffith y nombrándola proteína "prión" de las siglas "proteinaceos infectious particle " (10). El gen que codifica esta proteína se identificó en 1985. Los resultados sugirieron que las mutaciones en este gen hacían al individuo susceptible a los virus lo cual explicaba el comportamiento de transmisibilidad y las mutaciones en el gen explicaban la incidencia del padecimiento en diferentes familias, es decir la transmisión genética de la enfermedad.

La PrPc se encuentra normalmente en la superficie de células del sistema nervioso y de otros tejidos, es sensible a proteasas y tiene un alto recambio (síntesis-degradación). En tanto que la PrPsc se degrada lentamente por lo que se acumula en vesículas citoplásmicas y en lisosomas, siendo capaz de polimerizarse.

Poco después de iniciarse la caracterización de la PrPsc, se propuso que la proteína era el agente infeccioso, lo cual provocó una revolución en el pensamiento científico respecto a los agentes infecciosos.

La explicación alternativa se basaba en la aparición en los casos espontáneos o de enfermedad genéticamente transmitidas (ECJ) de un evento de mutación que permitiera la aparición de una proteína alterada la cual era capaz de disparar la autorreplicación, por medio de la conversión catalítica de la PrPc a PrPsc. Esta conversión se ha logrado experimentalmente y podría significar la "síntesis" de la partícula dañina y potencialmente infecciosa, la cual al ser resistente a las proteasas, se acumula en los estados avanzados en la mayoría de los casos de EET.

La PrPsc actúa como un isómero conformacional de la PrPc. La interacción entre la forma anormal con la normal causa una polimerización patológica, por lo cual la forma normal de la proteína permite la propagación de la agregación proteínica produciendo los cambios estructurales a nivel cerebral característicos de estas enfermedades.

Los priones sintetizados de *novo* expresan la secuencia del gen de la PrPc huésped y no de la PrPsc y por un proceso post-traduccional no conocido, se convierte la proteína normal en su isoforma patológica.

Se ha identificado la existencia de diversos tipos de la proteína infecciosa, las cuales pueden ser distinguidas por los diferentes períodos de incubación que muestran en animales de experimentación (11), así como por los diversos tipos de cambios neuropatológicos observados en ratones. A pesar de esta variedad de tipos de la proteína infecciosa ,en el caso de la EEB sólo se ha identificado una variante asociada con la patología; sin embargo, los casos de ECJ iatrogénico y esporádico están relacionados con tres distintas formas de la PrPsc humana, las cuales pueden ser diferenciadas por "western blot" después de la proteólisis, por los diferentes tamaños de los fragmentos proteínicos. Los tipos 1 y 2 están asociados con la ECJ esporádica y el tipo 3 en algunos casos de la ECJ iatrogénica. Se ha observado un 4o. tipo, que infecta macacos y ratones y produce EEB experimental (12).

Los mecanismos postulados para la replicación de la proteína son los siguientes (13): 1)La hipótesis de "sólo proteínas", en la cual se propone que el prión es una proteína modificada de una forma normal de la PrPc, codificada por un gen del huésped; sin embargo, esta hipótesis no puede explicar la existencia de diversas líneas de priones, propagadas en huéspedes homocigotos sin afectar sus genes, 2) Se ha sugerido que la PrPsc puede estar asociada con una molécula accesoria (ácido nucleico) el cual modula el fenotipo del prión sin ser esencial para la infectividad; sin embargo, no hay evidencias de ácidos nucleicos en las partículas proteínicas en ninguna de sus etapas. 3) Se ha propuesto que la PrPsc sufre modificaciones secundarias del tipo de glucosilación, ciertos residuos de polisacáridos podrían ser el blanco de la célula y la glucosilación dar la especificidad y marcar el inicio del daño. 4) Otra posibilidad es que la PrPsc, exista en diversas conformaciones, una para cada línea de priones, donde cada tipo de prión es capaz de dar su propia conformación a la PrPc con la que interactúa y esta polimerización inicie y perpetúe el daño. Algunos autores han postulado que los priones anormales pueden ser fagocitados por células del sistema inmunológico, donde podrían transformar proteínas normales y eventualmente alcanzar el cerebro a través del sistema nervioso y la médula espinal.

Aún aceptando cualquiera de las anteriores hipotésis se desconoce la forma de infectividad de los priones, la forma de multiplicación de los mismos y su mecanismo de conversión a la forma patológica.

Lo que se sabe es que la PrPc se combina con la PrPsc y se produce un heterodímero que se transforma en dos moléculas de PrPsc. En el siguiente ciclo estas dos se combinan con dos normales dando origen a cuatro PrPsc; esta polimerización en cadena termina dañando las neuronas y provoca proliferación glial.

CONCLUSIÓN

Sin duda, el conocimiento de las enfermedades producidas por priones ha evolucionado a partir de la segunda mitad de este siglo, desde los primeros casos clínicos descritos en Alemania y posteriormente en Nueva Guinea que llevaron a los investigadores a tratar de clasificar al agente responsable, encasillándolo en el grupo de los llamados "virus

lentos", hasta los últimos estudios realizados para comprender el mecanismo patológico de estas enfermedades, incluyendo los diversos estudios epidemiológicos realizados. Sin embargo, para poder avanzar hay una necesidad de interrelación con otros campos de trabajo dadas las posibles implicaciones políticas y sociales que puede tener, el demostrar la transmisión del padecimiento de los animales al hombre.

Es necesario desarrollar vías que demuestren la transmisión de los animales a los humanos así como no pasar por alto las inquietudes de diversos grupos de investigación, que consideran la posibilidad de que la PrPsc actúe como ligando de cierta partícula viral o ácido nucleico que induce el cambio conformacional en la PrPc para producir una segunda molécula de PrPsc, la cual hasta este momento no ha podido ser identificada.

Es un hecho que estas enfermedades han dejado de ser un apartado nebuloso en los libros de Medicina y han tomado lugar predominante en las problemáticas de salud pública del primer mundo, además de constituir un importante e impresionante reto para las ciencias biológicas.

REFERENCIAS

1. Brown P. (1994) Transmissible human spongiform encephalopathy (Infectiuos cerebral amyloidosis): Creutzfeld-Jakob disease, Gerstmann-Straussler-Scheinker Syndrome, and Kuru. En: Neurodegenerative Diseases. Editor Calne DB Saunders Company, pp 839-876.

2. Medori R, Tritschler HJ, LeBlanc A, Villare F, Manetto V, Chen HY, Xue R, Leal S, Montagna P, Cortelli P, Tinuper P, Mochi M, Baruzzi A, Haw JJ, Ott J, Lugaresi E, Gambetti LA y Gambetti P (1992) Fatal familial insomnia, a prion disease with a mutation at codon 178 of the prion protein gene, N Engl J Med *326*: 444-449.

3. Hope J. (1995) Mice and beef and brain diseases, Nature *378*: 761-762.

4. Aguzzi A and Weissmann C. (1996) Spongiform encephalopathies. A suspicious sig-nature, Nature *383*: 666-667.

5. Skegg DCG. (1996) Sacred cows, science and uncertainties, Nature *382*: 755-757.

6. Anderson RM, Donelly CA, Fergunson NM, Woolhouse MEJ, Watt CJ, Udy HJ, Malwhinney S, Dunstan SP, Southwood TRE, Willesmith JW, Ryan JBM, Hoinville LJ, Hillerton JE, Austin AR y Wells GAM (1996) Transmission dynamics and epidemiology of BSE in British cattle, Nature *382*: 779-788.

7. Will RG, Ironside JW, Estibeiro K, Alperovitch A, Poser S, Pocchiari M, Hofman A y Smith PG (1996) A new variant of Creutzfeld-Jakob disease in the UK, Lancet *347*: 921-925.

8. Collinge J, Sidle KCL, Meads J, Ironside J y Hill AF (1996) Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of "new variant" CJD, Nature *383*: 685-690.

9. Collinge J, Palmer MS,Sidle KCL, Hill AF, Gowland F, Meads J, Asante E, Bradley R, Doey LJ y Lantos PL (1995) Unaltered susceptibility to BSE in transgenic mice expressing human prion protein, Nature *378*: 779-83.

10. Prusiner SB. (1991) Molecular Biology of Prion Disease, Science*252*: 1515-1522.

11. Telling GC, Parchi P, DeArmond J, Cortelli P, Montagna P, Gabizon R, Mastrianni J, Lugaresi E, Gambetti P y Prusiner SB (1996) Evidence for the Conformation of the pathologic isoform of the prion protein enciphering and propagating prion diversity, Science*274*: 2079-82.

12. Kocisko DA, Come SA, Priola SA, Chesebro B, Raymond GJ, Lansbury PT y Caughey B (1994) Cell-free formation of protease-resistant prion protein, Nature *370*: 471-474.

13. Bessen RA. (1996) Neurodegenerative prion diseases, Sci Med *3*(5): 12-21.

LOS RECEPTORES METABOTRÓPICOS DE AMINOÁCIDOS EXCITADORES: CLASIFICACIÓN Y MECANISMOS DE TRANSDUCCIÓN

Gabriela Fragoso Contreras y Ana María López Colomé. Departamento de Neurociencias del Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, FAX (525)622-56-07, Apartado postal 70-253, México DF. 04510, México.

RESUMEN

El ácido glutámico es un aminoácido ampliamente conocido por su participación en funciones metabólicas importantes, tanto en tejidos periféricos como centrales. Además, el ácido glutámico pertenece a un grupo de aminoácidos que también funcionan como neurotransmisores. Ahora es claro que la acción de la mayoría de los circuitos neuronales que incluyen en determinado nivel a la trasmisión glutamatérgica, es por medio de receptores específicos. El descubrimiento de receptores metabotrópicos (mGluR), acoplados a varios sistemas transductores de señales, cambiaron de manera importante la visión tradicional de la transmisión glutamatérgica. Nuestro propósito en este artículo es resumir lo que se conoce hasta ahora sobre los mGluR.

PALABRAS CLAVE: Receptores para glutamato, aminoácidos excitadores, fosfatos de inositol.

ABSTRACT

Glutamic acid is an amino acid that has long been known to play several important metabolic roles in central and peripheral tissues. In addition, glutamic acid belongs to a group of amino acids that serve also as neurotransmitters. It is now clear that most central neuronal circuits involve glutamatergic neurotransmission at some level and its action is mediated by specific receptors. The discovery of metabotropic receptors (mGluR), coupled to a variety of signal transduction systems, altered importantly the traditional view of glutamatergic neurotransmission. It is our intention in this paper to summarize what is now known about the mGluRs.

KEY WORDS: Glutamate receptors, excitatory amino acids, inositol phosphates.

INTRODUCCIÓN

El ácido glutámico (L-Glu) es el principal neurotransmisor excitador en el sistema nervioso central; su acción se inicia con la activación de receptores específicos en la membrana plasmática. Inicialmente se consideró que el L-Glu sólo actuaba sobre receptores que constituyen un canal catiónico inespecífico, relacionados con la transmisión sináptica excitadora rápida. Sin embargo, recientemente también se ha demostrado que el L-Glu interactúa con receptores acoplados a proteínas "G" (que unen al GTP), las que a su vez activan o inactivan la síntesis de segundos mensajeros en las células.

Los receptores para L-Glu y compuestos químicos relacionados (aminoácidos excitadores, AAE), se clasifican en 2 grandes grupos con base en su sistema de transducción (1): I) Los receptores ionotrópicos, proteínas heteroméricas en las que el ligando controla la apertura de un canal catiónico; se clasifican a su vez de acuerdo con sus propiedades farmacológicas y eletrofisiológicas en los de tipo N-metil-D-aspartato (NMDA), α-amino-3-hidroxi-5-metilisoxazol-4-propionato (AMPA) y ácido kaínico (KA) por ser estos los compuestos con mayor afinidad para activar a sus correspondientes receptores. II) Los receptores metabotrópicos (mGluR), son estructuras monoméricas acopladas a proteínas G que modulan la síntesis de segundos mensajeros mediante la regulación de la actividad de enzimas como la fosfolipasa C (PLC), la fosfolipasa D (PLD) y la adenilato ciclasa, así como de canales de calcio y de potasio. En 1985 se demostró que el L-Glu estimula a la PLC en neuronas del cuerpo estriado en cultivo, por medio de la estimulación de un receptor que no pertenece a las familias de receptores de tipo NMDA, AMPA o KA; un fenómeno similar se observó en rebanadas de hipocampo, en células granulares del cerebelo y en astrocitos en cultivo, lo

que significa que se encuentran tanto en células neuronales como en células gliales. La existencia de esos nuevos receptores, denominados mGluR, se confirmó por medio del modelo de ovocitos de *Xenopus* que permite expresar los ARN mensajeros de estos nuevos receptores. El NMDA, AMPA y KA, agonistas para los receptores ionotrópicos, no activan directamente a los mGluR clonados. Consecuentemente, los antagonistas de los receptores de tipo NMDA maleato de dizocilpina (MK-801), el ácido 2-amino-5-fosfonopentanoico (AP5) y los de los receptores de tipo AMPA/KA, la 6-ciano-7-nitroquinoxalina-2,3-diona (CNQX), la 6-nitro-7-sulfamoilbenzoquinoxalina-2,3-diona (NBQX) y el ácido γ-D-glutamilaminometilsulfónico (GAMS), tampoco fueron capaces de afectar la actividad de los nuevos receptores de manera directa (2 y 3).

Se han sintetizado ya varios ligandos selectivos para los diferentes tipos de mGluR, que permiten distinguirlos farmacológicamente. Antes de 1993 el ácido L-2-amino-3-fosfonopropiónico y el β-hidroxamato del L-aspártico eran los antagonistas más usados; actualmente se consideran como poco selectivos y de baja potencia. Los agonistas generales más empleados son el ±-1-aminociclopentano-trans-1,3-dicarboxilato (tACPD), mezcla equimolecular de (1S,3R) y (1R,3S)-ACPD que interactúa de manera diferencial con todos los mGluR y cuyo isómero más activo es el 1S,3R-ACPD, el ácido 2-amino-4-fosfonobutírico (AP4) que activa a un tipo de receptores acoplados a la inhibición de la adenilato ciclasa, la L-2-(carboxiciclopropil)-glicina-I (L-CCG-I) y compuestos relacionados, así como una serie de agonistas y antagonistas derivados de la fenilglicina, la mayor parte de los cuales actúa sobre los mGluR presinápticos (4).

Mediante el uso de técnicas de biología molecular se han clonado 8 genes que codifican mGluR (5), algunos de los cuales generan variantes postranscripcionales ya sea por empalme alternativo o bien por cambios de edición del ARNm. Dos laboratorios aislaron clonas de ADNc que codifican el receptor metabotrópico ahora designado como mGluR1a cuya secuencia se ha empleado como sonda para analizar bibliotecas de ADNc mediante hibridación y reacción en cadena de la polimerasa, lo que ha permitido identificar a otros miembros de esta familia de receptores.

Con base en la similitud de su secuencia de aminoácidos , así como en su mecanismo de transcripción, los 8 mGluR descubiertos hasta ahora se clasifican en 3 grupos. Los mGluR del mismo grupo tienen aproximadamente 70% de similitud en su secuencia, mientras entre los diferentes grupos este porcentaje se reduce a 45%. El grupo I comprende al mGluR1 y mGluR5, el grupo II al mGluR2 y mGluR3 y el grupo III a los 4 restantes (Tabla I). Sus mecanismos de transducción se han estudiado al inducir su expresión en ovocitos de *Xenopus*, células de ovario de hámster chino, células de riñón de hámster neonato o en células de riñón embrionario de humano.

Los mGluR del grupo I están acoplados principalmente a la hidrólisis del fosfolípido de membrana fosfatidilinositol-4,5-difosfato (PIP_2), pero entre éstos, la variante "a" (anteriormente denominada) del mGluR1, se relaciona con la activación de la adenilato ciclasa, mientras que los de los grupos II y III están acoplados a la inhibición de esta enzima (Fig. 1).

RECEPTORES mGluR DEL GRUPO I

A este grupo pertenecen los receptores mGluR1 con cinco isoformas (a, b, c, d y e) y el mGluR5 con dos

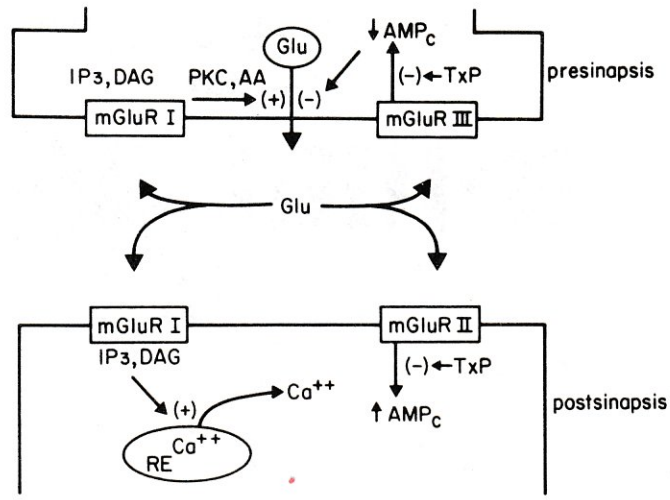


Figura 1. El diagrama muestra la comunicación sináptica glutamatérgica entre dos neuronas, la localización de los diferentes tipos de receptores metabotrópicos para el ácido glutámico (mGluR), y las reacciones inducidas por la activación de éstos en la terminal presináptica y la zona postsináptica. Abreviaturas: **AA**, ácido araquidónico; **AMPc**, adenosín monofosfato cíclico; **Ca^{++}**, ión calcio; **DAG**, diacilglicerol; **IP_3**, trifosfato de inositol; **Glu**, ácido glutámico; **PKC**, proteína cinasa C; **TxP**, toxina *pertussis*; **(+)**, activación; **(-)**, inhibición.

isoformas (a y b). En los sistemas de expresión examinados, el grupo I de receptores, al interactuar con su ligando, estimula a la fosfolipasa C, lo que se traduce en un aumento en el recambio de fosfoinosítidos y la liberación de calcio de compartimientos intracelulares (Fig. 1 y Fig. 2). El componente inicial, la molécula receptora en la superficie de la célula, transmite información a través de la membrana plasmática hacia el interior de la misma por medio de una proteína G que se activa mediante la unión del GTP. La proteína G, activa a la fosfolipasa C en la cara interna de la membrana; la PLC a su vez hidroliza al fosfolípido PIP_2 en diacilglicerol (DAG) y trifosfato de inositol (IP_3). El IP_3 promueve la liberación de Ca^{2+} del retículo endoplásmico mediante su interacción con receptores específicos en este orgánulo celular. El DAG, en forma sinérgica con el Ca^{2+}, activa a una cinasa de proteína unida a la membrana, a la que se le ha denominado cinasa C (PKC), que a su vez fosforila a varias proteínas de la membrana plasmática (6) (Fig. 2).

Por otra parte, la variante postranscripcional mGluR1a también induce el aumento intracelular de

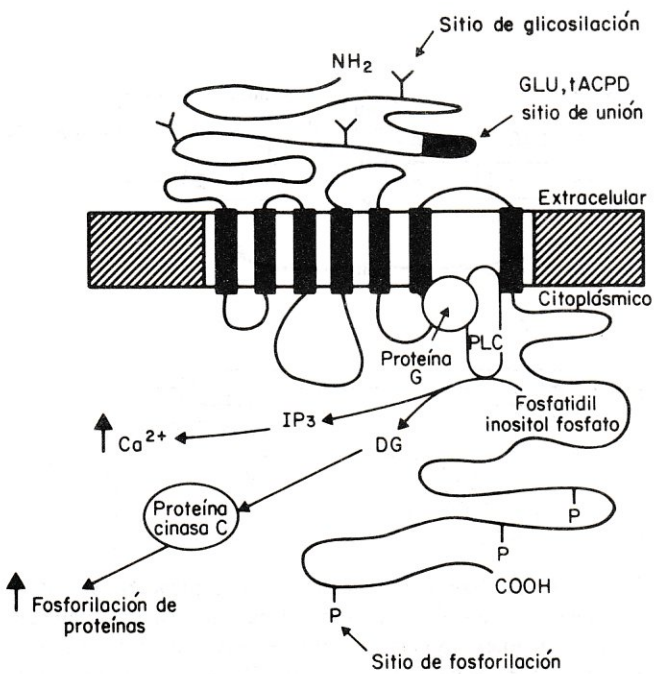


Figura 2. Diagrama de la estructura general de los receptores metabotrópicos para AAE. Abreviaturas: **Ca^{2+}**, ión calcio; **COOH**, extremo carboxilo; **DG**, diacilglicerol; **IP_3**, trifosfato de inositol; **GLU**, ácido glutámico; **NH_2**, extremo amino; **PLC**, fosfolipasa C; **tACPD**, (±)-1-aminociclopentano-trans-1,3-dicarboxilato.

adenosín monofosfato cíclico (AMPc), lo que conlleva la activación de la enzima responsable de su síntesis, denominada adenilato ciclasa. Esta glucoproteína está anclada a la membrana plasmática y tiene un peso molecular aproximado de 150,000 kDa. Su sitio catalítico se localiza en la superficie interna de la membrana celular y transforma al ATP en AMPc y su actividad está regulada por proteínas G. El AMPc es importante en la fisiología celular por su acción como segundo mensajero, que activa cinasas de proteína, especificamente la proteína cinasa A dependiente de AMPc (PKA), formada por dos pares de subunidades: dos reguladoras y dos catalíticas. El AMPc se une a las subunidades reguladoras y causa su disociación de las subunidades catalíticas; las subunidades catalíticas transfieren el fosfato-γ del complejo Mg^{2+}-ATP a los residuos de aminoácidos de diversas enzimas, cuya función se regula por fosforilación. La síntesis de AMPc y la activación de la PKA amplifica de manera considerable la señal inicial. La forskolina es una herramienta farmacológica útil en el estudio de los receptores que estimulan a la PKA, el único fármaco permeable a la membrana celular que activa a la adenilato ciclasa directamente, un diterpeno aislado de la raíz de la planta medicinal hindú, *Coleus forskohlii* (7) (Fig 3).

La cinética de la liberación del Ca^{2+} inducida por los mGluR1 a, b y c, expresados en sistemas heterólogos como ovocitos de *Xenopus* y células de mamífero transfectadas, presenta algunas diferencias. La liberación que inducen los mGluR1b y c es más lenta y de más larga duración que la inducida por el mGluR1a. La estimulación de la PLC por activación del mGluR1a puede inhibirse parcialmente con la toxina *pertussis*, lo que sugiere la participación de una proteína G de la familia Gi-Go. En este grupo, el mGluR1a activa a la adenilato ciclasa cuando se expresa en ovocitos de hámster chino, lo que aumenta la concentración intracelular de AMPc.

Entre los AAE que activan a los receptores metabotrópicos, así como a los ionotrópicos, están el ácido quiscuálico (QA), el ácido iboténico (IBO) y el L-Glu, aunque el QA es un agonista más potente en los receptores metabotrópicos que en los ionotrópicos tipo AMPA/KA. En el análisis farmacológico de los receptores mGluR1a transfectados en líneas celulares de mamífero y ovocitos de

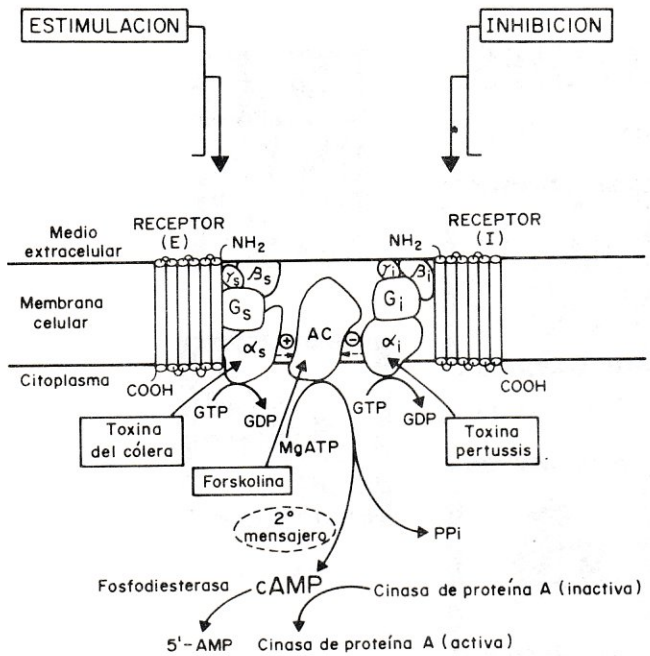


Figura 3. Diagrama que muestra el control bifásico de la adenilato ciclasa (AC). Los agonistas fisiológicos, transmisores y drogas, se unen a receptores específicos de la membrana plasmática, acoplados a proteínas G (Gs o Gi), representadas por las subunidades αs o αi, βs o βi, γs o γi. La transducción de esta señal al sitio catalítico de la AC, localizada en la superficie interna de la membrana, produce su activación o inhibición. Ciertos agentes, como la toxina del cólera o la toxina *pertussis*, causan la ribosilación de la subunidad de la proteína G y estimulan o inhiben respectivamente su actividad. La forskolina activa directamente a la AC, sin la intervención de la proteína G reguladora (Gs) que aumentan la concentración de AMPc intracelular.

Xenopus, los agonistas tienen el siguiente orden de potencia: QA > L-glu > IBO > L-CCG-I > 1S,3R-ACPD (Tabla I); el QA tiene efecto a concentraciones micromolares bajas, mientras que el tACPD a concentraciones micromolares altas o milimolares. Cuando se elimina por empalme alternativo del extremo carboxilo de mGluR1a, una secuencia corta, esta remoción afecta su potencia pero no el orden de sensibilidad a los agonistas. Aunque es difícil distinguir farmacológicamente entre los receptores mGluR1 y 5, el mGluR5 es más sensible al tACPD que el mGluR1. Por otra parte, la mayoría de las fenilglicinas son antagonistas para el mGluR1a, las más potentes son la 4-carboxi-3-hidroxifenilglicina (4C3HPG) y la 4-carboxifenilglicina (4CPG) (Tabla I).

Se ha demostrado por hibridación con el ARNm correspondiente, que la distribución de estos receptores en el sistema nervioso central de la rata, es heterogénea, aunque no es posible definir esto en términos cuantitativos; las regiones con las más altas concentraciones son: la capa de células de Purkinje, así como las células granulares del cerebelo aunque no se ha definido su función en este órgano. En el área CA3 y el giro dentado del hipocampo se observa un nivel mayor de expresión que en la región CA1 y la substancia nigra, lo que junto con otras evidencias ha permitido asociarlos con las funciones de memoria y aprendizaje. En el tálamo, el bulbo olfatorio, el septum, el hipotálamo y los núcleos subtalámicos, tienen un nivel moderado de expresión; la corteza cerebral, el estriado y la capa molecular del cerebelo tienen una concentración baja de éstos. Estos receptores no sólo movilizan el Ca^{2+} intracelular, sino que al activar cinasas de proteína, pueden modular receptores para AAE de tipo ionotrópico a los que les altera el estado de fosforilación, con lo que podrían participar en la regulación de la transmisión glutamatérgica rápida (Fig. 1).

RECEPTORES mGluR DEL GRUPO II

Los receptores del grupo II (mGluR2 y mGluR3) se han sobreexpresado por transfección en células de ovario de hámster chino y en células de riñón de hámster neonato; en estas líneas, derivadas de fibroblastos, la activación de estos receptores inhibe la estimulación de la adenilato ciclasa producida por forskolina. La toxina *pertusis* inhibe totalmente esta transducción, lo que sugiere que la proteína G que participa en el acoplamiento es de la familia Gi. En contraposición con los receptores del grupo I, el 1S, 3R-ACPD es un agonista potente en este grupo, mientras que el QA es un agonista débil, aunque cabe aclarar que la sensibilidad al QA varía entre los miembros de este grupo porque las EC_{50} del QA son para el mGluR2 de 1mM y para el mGluR3 de 40 μM, parámetros que ayuda a diferenciarlos. El agonista (RS)-3,5-dihidroxifenilglicina (DHPG), considerado más potente que el tACPD, es un compuesto específico para el grupo mGluRII. La L-CCG-I (fig. 3) es aproximadamente 10 veces más potente que el 1S,3R-ACPD en los mGluR2, y para este último existe la α-metil-4-carboxifenilglicina como único antagonista, pero su efecto es débil y también tiene efecto antagonista sobre el mGluR1a. El perfil farmacológico general de la potencia de los agonistas es: DCG-IV ≥ L-CCG-I > L-Glu ≥ DHPG ≥ (1S,3R)-ACPD > IBO > QA (Tabla I). La DCG-IV es la más potente entre los derivados de la carboxiciclopro-

pilglicina, pues tiene poca o nula actividad sobre los receptores de los grupos I y III. Paradójicamente, los derivados de la fenilglicina como la 4CPG, 4C3HPG y 3C4HPG (Tabla I) son agonistas para el receptor mGluR2 y antagonistas para los mGluR I.

RECEPTORES mGluR DEL GRUPO III

En este grupo, que incluye a los receptores mGluR4, 6, 7 y 8, el agonista más potente es el L-AP4, seguido por el L-Glu. El 1S,3R-ACPD y el QA, son menos activos o carecen de efecto. Estos receptores también responden a la estimulación por la L-ortofosfato de serina (L-SOP) y el mGluR4 se identifica por su alta sensibilidad al IBO. El orden de potencia de los agonistas es: L-AP4 ≥ L-Glu ≥ L-CCG-I ≥ L-SOP (Tabla I). El mGluR6 es más sensible a la L-SOP que al L-Glu y su presencia se restringe, hasta ahora, exclusivamente a la capa interna de la retina. Estos receptores están acoplados a la inhibición de la adenilato ciclasa; por consiguiente, su activación disminuye los niveles intracelulares de AMPc. Se considera que éstos corresponden a receptores presinápticos cuya función es regular la liberación del neurotransmisor endógeno (Fig. 1).

Otro mecanismo de transducción que estos receptores pueden modular, es la activación de la fosfolipasa A2 (PLA2), lo cual conlleva la hidrólisis de fosfolípidos de membrana (especialmente la fosfatidilcolina) y así aumenta la síntesis del segundo mensajero, ácido araquidónico. Entre las funciones que realiza el ácido araquidónico está la activación de la

TABLA I

COMPARACIÓN ENTRE LAS PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LOS RECEPTORES METABOTRÓPICOS PARA ÁCIDO GLUTÁMICO. (Modificada de 5 y 8)

	NÚMERO DE AMINOÁCIDOS	SISTEMAS DE TRANSDUCCIÓN	AGONISTAS	ANTAGONISTAS
GRUPO I			QA	4C3HPG
MGluR1α	1199	↑ IPs	L-Glu	4CPG
		↑ AMPc	IBO	MCPG
		↑ AA	L-CCG-I	3C4HPG
MGluR1β	906	↑ IPs	ACPD	
MGluR5	1171	↑ IPs	DHPG	
GRUPO II			DCG-IV	MCPG
MGluR2	872	↓ AMPc	L-CCG-I	
MGluR3	879	↓ AMPc	L-Glu	
			DHPG	
			ACPD	
			IBO	
			QA	
			3C4HPG	
			4C3HPG	
GRUPO III				
MGluR4	912	↓ AMPc	AP4	
MGluR6	871	↓ AMPc	L-Glu	
MGluR7	915	↓ AMPc	L-CCG-I	
MGluR8	881	↓ AMPc	L-SOP	
			ACPD	

Abreviaturas: ACPD, (±)-1-aminociclopentano-trans-1,3-dicarboxilato; **AMPc**, adenosín monofosfato cíclico; **AP4**, ácido 2-amino-4-fosfonobutirato; **3C4HPG**, 3-carboxi-4-hidroxifenilglicina; **4C3HPG**, 4-carboxi-3-hidroxifenilglicina; **4CPG**, 4-carboxifenilglicina; **DCG-IV**, 2-(2-3-dicarboxiciclopropil)glicina-IV; **DHPG**, (RS)-3,5-dihidroxifenilglicina; **IPs**, fosfatos de inositol; **IBO**, ácido iboténico; **L-CCG-I**, L-2-(carboxiciclopropil) glicina-I; **L-Glu**, ácido L-glutámico; **L-SOP**, L-ortofosfato de serina; **MCPG**, α-metil-4-carboxifenilglicina; **QA**, ácido quiscuálico.

PKC u otras cinasas, y el ser precursor de otros compuestos con función de mensajeros como las prostaglandinas, los leukotrienos y los tromboxanos que interactúan con receptores membranales específicos en células adyacentes a las que lo liberan. Se ha propuesto al ácido araquidónico como mensajero retrógrado que participa en inducir la potenciación a largo plazo (base fisiológica del aprendizaje y la memoria), dado que el QA induce un incremento muy importante de ácido araquidónico dependiente de PLA2 en neuronas del cuerpo estriado. Dicho efecto se considera mediado por la activación de receptores metabotrópicos y se potencia por la activación simultánea de estos y receptores ionotrópicos para AAE.

Actualmente existe evidencia que otros mecanismos de segundos mensajeros, además de los descritos anteriormente, se regulan por la activación de los mGluR, entre éstos la producción de ácido fosfatídico y colina libre que se producen por la activación de la fosfolipasa D (PLD) y la subsecuente hidrólisis de fosfolípidos membranales, principalmente fosfatidilcolina. El ácido fosfatídico puede transformarse en DAG por acción de la enzima fosfatidato-fosfohidrolasa; el DAG producido podría activar diferentes isoformas de la PKC de las activadas por la vía de los fosfoinosítidos. Esta actividad puede inducirse por el estereoisómero 1S,3R-ACPD y por los compuestos QA, IBO y L-CCG-I, pero no por agonistas ionotrópicos como el NMDA o KA; dado que no se bloquea por antagonistas ionotrópicos, se postula que intervienen algunos mGluR.

CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES DE LOS RECEPTORES METABOTRÓPICOS

La comparación entre la secuencia de aminoácidos de los mGluR, revela ciertos factores característicos y no presenta similitud con otros receptores acoplados con proteínas G: cada uno tiene un péptido señal, el dominio amino terminal del receptor, propuesto como extracelular, 7 segmentos hidrofóbicos asociados muy estrechamente que atraviesan la membrana; esta región se define como dominio transmembranal. El dominio carboxilo terminal, propuesto como intracelular, es variable en longitud y poco conservado entre los miembros de esta familia de receptores. La secuencia más conservada corresponde a una región hidrofóbica localizada en el dominio extracelular, propuesto como el sitio de unión del ligando. Existen 21 residuos de cisteína que se conservan en todos los mGluR, 9 de estos residuos están localizados en la porción carboxilo terminal. Los receptores poseen numerosos sitios de fosforilación en secuencias intracelulares y sitios de glicosilación extracelulares, propuestos como zonas de modulación (Fig.2).

LA RELACIÓN ENTRE LOS mGluR Y LA FISIOLOGÍA NEURONAL

Se ha demostrado que los mGluR participan en muchas funciones cerebrales como fenómenos de plasticidad sináptica, desarrollo del sistema nervioso, la potenciación a largo plazo y la inhibición a largo plazo que son la base del aprendizaje y la memoria. También están relacionados con la modulación de la neurotoxicidad inducida por el L-Glu y participan como mediadores en desórdenes neurodegenerativos como la corea de Huntington y la enfermedad de Alzheimer. Asimismo, toman parte en la regulación de la liberación del propio L-Glu (8 y 9).

1) Papel de los mGluR en el desarrollo- La hidrólisis de fosfoinosítidos que induce la activación de mGluR (específicamente mGluR5a), es particularmente elevada durante el período inmediatamente posterior al nacimiento y esta función disminuye progresivamente durante el resto del desarrollo postnatal. El acoplamiento entre los mGluR y la PLC, durante los estados tempranos del desarrollo, sugiere que estos receptores pueden participar en el desarrollo postnatal al proporcionar una señal trófica, promover la sobrevivencia y conferir neuroprotección contra la muerte celular apoptótica. Bruno y colaboradores demostraron que en células granulares del cerebelo, el tACPD protege de la muerte celular apoptótica inducida por despolarización (10).

2) Neurotoxicidad y Neuroprotección- El L-Glu es el principal agente neurotóxico responsable del daño que se observa en el cerebro en los cuadros de isquemia, anoxia e hipoglicemia (11 y 12). Se entiende por neurotoxicidad a la sobreactivación descontrolada de estos receptores, que desencadena respuestas intracelulares tales como el aumento excesivo de Ca^{2+}. El Ca^{2+} es un segundo mensajero que activa enzimas que en exceso, llegan a causar la muerte celular. Los antecedentes bibliográficos indican que el receptor tipo NMDA es el principal participante por su alta permeabilidad al Ca^{2+}; sin

embargo, los mGluR también intervienen, ya que se ha demostrado que el QA es un potente neurotóxico en cultivos corticales; el grado de esta neurotoxicidad depende de la dosis y del tiempo de exposición, las EC_{50} son 250μM (5 minutos) y 1μM (20 a 24 horas). La neurotoxicidad aguda del QA es independiente del Ca^{2+} extracelular e insensible a los antagonistas para los receptores ionotrópicos tipo NMDA y No-NMDA (12 y 13). Sin embargo, los mGluR parecen también ejercer el papel contrario, ya que el tACPD actúa como neuroprotector contra la toxicidad que produce el NMDA en cultivos corticales de células granulares del cerebelo y de la retina. Esta neuroprotección se revierte con inhibidores de cinasas de proteína, como el H7 y el HA-1004. En este efecto protector participa probablemente una proteína G, ya que se revierte pretratando al tejido con toxina *pertussis*. Asimismo la L-CCG-I y la L-SOP que son agonistas de los mGluR de los grupos acoplados negativamente a la adenilato ciclasa (grupos II y III), pueden atenuar la neurotoxicidad del NMDA, lo que indica que en el efecto protector interviene la inhibición de esta enzima (11). Una posibilidad alternativa podría ser que la neuroprotección fuera el resultado de la inhibición de los canales de calcio operados por voltaje debido a que generalmente, durante el daño agudo cerebral, como trauma, hipoglicemia y epilepsia, la sobreestimulación del receptor de NMDA despolariza la membrana e induce la entrada excesiva de Ca^{2+} a las neuronas a través de estos canales. Se considera que por su ubicación en terminales presinápticas, los receptores mGluRI participan en la neurotoxicidad al estimular la liberación del AAE endógeno y, por localizarse en la periferia del botón presináptico, sólo se activarían cuando la concentración del neurotransmisor fuera excesiva, mientras que los receptores acoplados a la inhibición de la adenilato ciclasa, como los mGluRII y III se consideran neuroprotectores dado que bloquean la liberación del L-Glu en la presinapsis (Fig. 1).

3) La potenciación a largo plazo (LTP)- Consiste en un aumento sostenido de la eficiencia sináptica, considerada como la facilitación neuronal para responder a las señales provenientes de otras células y que induce una estimulación eléctrica de alta frecuencia en vías cerebrales específicas de los mamíferos; es hasta ahora el modelo más aceptado para el aprendizaje y la memoria. La LTP requiere de un aumento en la concentración de Ca^{2+} libre en el citoplasma a través de canales membranales. Esta entrada de Ca^{2+} puede ocurrir a través de 2 canales distintos: a) los canales del receptor tipo NMDA, b) a través de canales de calcio dependientes de voltaje; el aumento intracelular de calcio se consigue también por medio de su liberación de almacenes intracelulares en que intervienen receptores para IP_3, que se produce por la activación de la PLC acoplada a mGluR. Existe evidencia que apoya la participación de los mGluR en el hipocampo, entre la que se incluye el bloqueo de la LTP por inyección intracerebro-ventricular de toxina *pertussis*, y la proteína G sensible a ésta parece localizarse en la presinapsis de las fibras musgosas de la región CA3. El ácido D,L-2-amino-3-fosfonopropiónico (1 mM) reduce la potenciación a largo plazo en las mismas fibras musgosas; las neuronas piramidales del área CA3 del hipocampo y células granulares del núcleo dentado tienen niveles altos de ARNm para los mGluR1 y 5 (acoplados a la PLC).

CONCLUSIONES

Los mGluR son un grupo de receptores acoplados a las proteínas G, para regular la concentración intracelular de segundos mensajeros tales como: fosfatos de inositol, diacilglicerol, AMPc, GMPc y Ca^{2+}, al activar o bloquear las enzimas que los sintetizan o liberan. Participan en una gran variedad de funciones cerebrales tales como la memoria, el aprendizaje, la excitotoxicidad y la diferenciación. Asimismo, el conocimiento bioquímico de los mGluR puede contribuir a dilucidar los mecanismos patológicos de enfermedades neurodegenerativas, relacionadas con el funcionamiento de estos receptores, permitiendo la síntesis de fármacos activos para su control y tratamiento.

REFERENCIAS

1. Sugiyama H, Ito I y Watanabe M (1989) Glutamate receptor subtypes may be classified into two major categories: A study on *Xenopus* oocytes injected with rat brain mRNA, Neuron *3*: 129-132.

2. Sugiyama H, Ito J E y Hirono C (1987) A new type of glutamate receptor linked to inositol phospholipid metabolism, Nature *325*:531-533.

3. Tanabe Y Masu M Ishii T Shigemoto R y Nakanishi S (1992) A family of metabotropic glutamate receptors, Neuron *8*:169-179.

4. Roberts P J (1995) Pharmacological tools for the investigation of metabotropic glutamate receptors (mGluRs): Phenylglycine derivatives and other selective antagonists -an update, Neuropharmacology *34*(8):813-819.

5. Pin J P y Duvoisin R (1995) Review: Neurotransmitter receptors I. The Metabotropic Glutamate Receptors: Structure and Functions, Neuropharmacology *34*(1):1-26.

6. Berridge M J (1987) Inositol triphosphate and diacylglycerol: two interacting second messengers, Annu Rev Biochem *56*:159-193.

7. Aramori I y Nakanishi S (1992) Signal transduction and pharmacological characteristics of a metabotropic glutamate receptor, mGluR1a, in transfected CHO cells, Neuron *8*:757-765.

8. Nakanishi S (1992) Molecular diversity of glutamate receptors and implications for brain function, Nature *258*:597-543.

9. Schoepp D D y Conn P J (1993) Metabotropic glutamate receptors in brain function and pathology, Trends Pharmacol Sci *14*:13-20.

10. Palmer E, Nangel-Taylor K, Krause J D, Roxas A y Cotman C W (1990) Changes in excitatory amino acid modulation of phosphoinositide metabolism during development, Dev Brain Res *51*:132-134.

11. Meldrum B y Garthwaite J (1990) Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease, Trends Pharmacol Sci *11*:379-388.

12. Choi D W (1988) Calcium-mediated neurotoxicity: relationship to specific channel types and role in ischemic change, Trends Neurosci *11*:465-468.

13. Birrel G J, Gordon M P y Marcoux F W (1993) (1S,3R)-1-aminocyclopentane-1,3-dicarboxylic acid attenuates N-methyl-D-aspartate-induced neuronal cell death in cortical cultures via a reduction in delayed Ca^{2+} accumulation. Neuropharmacology *32*:1351-1358.

LA MEMORIA INMUNE

Gabriel Silva* y José Víctor Calderón Salinas**. *Departamento de Inmunología, Laboratorio Multidisciplinario de Investigación, Escuela Militar de Graduados en Sanidad, Secretaria de la Defensa Nacional. **Departamento de Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, IPN.

RESUMEN

La respuesta inmune está estructurada por una secuencia de fenómenos que deben de culminar en la discriminación entre lo propio y lo ajeno y eliminar lo último. La memoria inmune es una parte importante de estos procesos, ya que permite mejorar o evitar la respuesta cuando el organismo se enfrenta por segunda vez a un mismo antígeno o a uno relacionado. La base celular y molecular de la memoria inmune se encuentra en las células B y T de memoria, que manifiestan algunas características morfológicas y funcionales especiales. Se ha propuesto que estas células pueden tener vida media muy larga y que, de esa forma, garantizan la memoria del sistema; sin embargo, recientemente ha tomado fuerza la idea de que existen adaptaciones clonales inducidas por la presencia y la persistente estimulación del antígeno. En el presente trabajo se analizan algunas de las evidencias que dan fuerza a la postulación de estos mecanismos en esta importante propiedad del sistema inmune.

PALABRAS CLAVE: memoria inmune, células T, células B.

ABSTRACT

The immune response is structured by a sequence of phenomena that must end in the discrimination between the self and what does not belong to the self and eliminate the last. The immune memory is an important part of these processes, since it increases or avoids the response when the organism faces for the second time the same antigen or related antigens. The molecular and cellular bases of the immune memory are in the memory B and T cells, which have some special morphological and physiological characteristics. These cells may have a very long life which garantee the memory of the system. However, the idea that the antigen may stimulate continuously and induce clonal adaptations has been considered seriously recently. In the present work we analyze some evidences that support the proposal of these mechanisms in this important propriety of the immunological system

KEY WORDS: Immune memory, B cells, T cells.

LA RESPUESTA INMUNE

La respuesta inmune está estructurada por una secuencia compleja de fenómenos, que inicia con la presencia de un estímulo o antígeno (Ag) y debe de culminar con la eliminación del agente que la provoca. La respuesta inmune debe discriminar entre lo propio y lo ajeno y eliminar lo último, ya sea un microorganismo, un injerto de tejido o moléculas como proteínas o carbohidratos de un polen, del pasto o de algún alimento. Los orga-nismos vivos están continuamente expuestos a diver-sas interacciones con agentes externos, contra los cuales, en organismos superiores existen dos niveles de defensa, la inmunidad innata y la adquirida.

En la inmunidad innata, la superficie del organismo forma estructuras (como la piel) que conforman una barrera mecánica; también, pueden secretarse diferentes enzimas hidrolíticas (como la lisozima) que tienen la capacidad de atacar las membranas y la pared celular de los organismos extraños. En forma similar, la vía alterna del sistema del complemento se activa directamente por diversas células, las cuales son eliminadas por lisis o por la fagocitosis que realizan macrófagos y polimorfonucleares, para los cuales son quimiotácticos los componentes activados del sistema del complemento.

La inmunidad innata o inespecífica contra los virus, está constituida por las células citotóxicas naturales (NK) y por los interferones α y β (IFN α y β). Las células NK son linfocitos capaces de adherirse y eliminar a las células tumorales o infectadas con virus. Las NK se activan por el IFN α y β que son producidos por ciertos leucocitos y por las mismas células infectadas.

Mientras que el sistema inmune innato es inespecífico, la inmunidad adquirida es una respuesta altamente específica, en ella el agente inmunógeno desencadena una serie de procesos que dan como resultado la activación de los linfocitos y la producción de anticuerpos y de células efectoras específicas para el antígeno, todo esto además va acompañado del desarrollo del fenómeno de memoria. La memoria inmune se refiere a la presencia de una respuesta diferente a la inicial, durante un segundo encuentro con un mismo Ag o con un Ag relacionado (1).

LA MEMORIA INMUNE

El concepto más aceptado se refiere a un cambio en las respuestas que siguen al primer estímulo, donde la respuesta inmune ocurre más rápido, alcanza mayores niveles de actividad y se mantiene por períodos más largos, acompañada de moléculas y células efectoras de diferente fenotipo con respecto a la respuesta inicial.

La base de la memoria en la respuesta inmune es la generación de las células T y las células B específicas para el antígeno. Después de la exposición inicial a un antígeno estas células de memoria se preparan y amplifican la respuesta en los encuentros subsecuentes con el mismo antígeno, en la llamada respuesta secundaria anamnésica.

La memoria inmune fue inicialmente descrita (en 1921), en la respuesta humoral, es decir con anticuerpos; 20 años después, se observó que el rechazo acelerado de un injerto de piel en un paciente, presentaba propiedades de memoria y era producido principalmente por células T (mediadores de la respuesta celular) y se encontró que la combinación alogénica donador-receptor de linfocitos T citotóxicos $CD8^+$ tenían un papel predominante (2).

LA MEMORIA INMUNE PRODUCIDA POR VIRUS

Muchas infecciones virales inducen una protección prolongada y con características francas de memoria inmune; por ejemplo, se ha documentado por estudios epidemiológicos que la inmunidad generada contra el virus del sarampión es de por vida.

El estudio de la memoria inmune hacia diferentes tipos de virus ha sido enfocado principalmente al diagnóstico de la persistencia viral en el organismo, al grado de la respuesta y la protección inmune y al establecimiento de estrategias para el desarrollo de vacunas.

Las infecciones virales agudas pueden inducir memoria tanto de células T como de células B (3). La memoria de las células B se manifiesta por la producción continua de anticuerpos que proveen la primera línea de defensa contra las infecciones virales. Por su parte las células T presentan una fase efectora relativamente de corta duración cuya función principal es la de establecer una respuesta inmune y eliminar el Ag.

Esta dicotomía en la respuesta humoral y celular es una característica que se presenta en muchas infecciones vírales agudas, pero a pesar de los avances en los estudios sobre memoria inmune, no se conocen con la profundidad necesaria los mecanismos que mantienen la inmunidad prolongada contra el ataque viral (4).

LA PARTICIPACIÓN DE LAS CÉLULAS T Y B EN LA MEMORIA INMUNE INDUCIDA POR VIRUS

La exposición primaria al antígeno provoca inicialmente la producción de anticuerpos específicos e induce la generación de las células B de memoria, dependientes de las células T. La diferenciación de células B de memoria se caracteriza por la hipermutación somática de genes en la región variable (V), que codifica la producción de anticuerpos, lo cual permite la selección de células que expresan variantes de receptores de muy alta afinidad, específicos para el antígeno. En excepcionales situaciones, la respuesta primaria puede continuar por semanas o meses. Esto se aplica a infecciones con microorganismos que son difíciles de erradicar y también para antígenos que se liberan lentamente como los suspendidos en adyuvante (empleado en las vacunas), desarrollando el fenómeno de memoria; sin embargo, lo usual es que la respuesta inmune primaria sea de corta duración, en la cual, el grupo de células efectoras generadas desaparecen rápidamente, por lo que, en este caso, la aparición de la memoria no es fácil de explicar por la persistencia del antígeno.

Las células B circulantes (plasmoblastos), rápidamente arriban a la *lámina propia* del intestino y a la

médula ósea, una vez que se ha efectuado la interacción con el antígeno presentado por los macrófagos. Algunas de estas células plasmáticas son de larga vida, pero la mayoría de ellas mueren rápidamente (1 a 2 semanas). Se han observado fenómenos similares para células T donde se ha determinado que muchas de las células generadas en la respuesta inmune primaria son rápidamente eliminadas al final de la respuesta, tal como se observa en los estudios con superantígenos (Sags). La muerte extensiva de células B en los centros germinales, parece ser un fenómeno relevante para la generación de las células B de memoria (5).

Un ejemplo de lo anterior lo tenemos en la infección por el virus de HIV. Recientemente se ha encontrado que las células BV_h3 (linfocitos B con región variable 3 en la cadena pesada) tienen gran especificidad para el antígeno gp120 del HIV, lo que significa que este Ag actúa como un Sag de células B. La infección con HIV está asociada con una impresionante expansión clonal temprana de células BV_h3, seguida de la eliminación clonal de la mayoría de estas células. Tal y como ocurre para las células T la eliminación de las células B y el fin de la respuesta inmune primaria están bajo control del protoncogen bcl-2, cuya expresión correlaciona con la sobrevivencia a esta etapa de selección, lo cual se hace evidente con el hallazgo de que la respuesta primaria de células B es muy prolongada en ratones transgénicos que sobreexpresan el gen bcl-2 (6).

En la generación de células de memoria se requiere del fenómeno de la maduración de las células con mayor afinidad por el antígeno, la cual ocurre en los centros germinales y está asociado con la hipermutación somática y la activación del isotipo de Ig. El microambiente de los centros germinales promueve la sobrevivencia selectiva de las mutantes con los receptores de mayor afinidad para el Ag. Estas células son exportadas del centro germinal para llegar a ser células de memoria, por el contrario el destino de las células con receptores de más baja afinidad es la muerte en el propio centro germinal por apoptosis.

Tanto las células T, como las células B de memoria y las células inactivas son derivadas del mismo linaje celular, pero se originan de dos grupos separados de precursores celulares. Estos precursores se distinguen por los diferentes niveles de expresión del antígeno marcador estable a calor (HSA). Las células B-HSA$^+$ generan una intensa respuesta inmune en contra del antígeno, pero fallan al generar a las células de memoria al final de esta respuesta, contrariamente, las células B-HSA$^-$ presentan una respuesta primaria pobre, pero funcionan bien como precursoras de células de memoria (7).

Con relación a las propiedades migratorias de las células de memoria, se sabe que las células T y B están diseminadas a lo largo de tejidos linfoides secundarios, con preferencia a acumularse en los ganglios linfáticos torácicos y que además son capaces de redistribuirse rápidamente entre la sangre y la linfa, después de la transferencia a hospederos intermediarios. Sin embargo, no todas las células de memoria son circulantes, algunas células B se encuentran en un subgrupo de células sésiles de la zona marginal del bazo y representan a las células encargadas de la respuesta continua de bajo grado mantenida por los depósitos residuales de antígeno.

La identificación y caracterización de las células T de memoria durante el curso de una respuesta inmune, se ha realizado por la separación y la activación de marcadores específicos, principalmente en animales transgénicos que sobreexpresan el receptor responsable del reconocimiento del Ag de células T (TCR), que ofrecen una fuente importante de células T antígeno-específicas (8). En estudios con animales transgénicos se ha mostrado que la desaparición rápida de las células efectoras generadas en la respuesta primaria, afecta tanto a linfocitos T con marcador de superficie CD4+ (linfocitos T operadores) como linfocitos con marcador CD8+ (linfocitos T citotóxicos). Esto se ha observado con diversos antígenos como el de histocompatibilidad HY masculino y el virus de la coriomeningitis linfocítica (LCMV).

La causa de la desaparición de las células no es clara, una posibilidad es que la muerte celular se presente por la estimulación exhaustiva, donde el permanente estímulo de los receptores de la célula eventualmente cause la activación de diversas señales intracelulares que inducen apoptosis. Otra posibilidad es que las células mueran por la ausencia de estimulación con factores promotores de crecimiento, como la interleucina 2 (IL-2).

Si bien la mayoría de las células plasmáticas tienen una vida media de relativamente corta duración debido a que son eliminadas durante la respuesta primaria, algunas células proliferan intensamente y permanecen por tiempos prolongados. Esto es debido a la exposición constante al antígeno, lo cual parece contribuir al inicio de la respuesta de memoria inmune.

LA TOLERANCIA INMUNE

Se ha determinado que la eliminación clonal es el preludio a la tolerancia y la memoria inmune; se ha sugerido que la tolerancia puede ser un reflejo del agotamiento en la respuesta inmune. Algunas evidencias de lo anterior son la eliminación de los linfocitos T con cadena pesada ß y de una determinada región variable V, al final de la respuesta inicial a los Sags, la cual está estrechamente relacionada con la tolerancia inmune. Existen muchos modelos experimentales que permiten el desarrollo de tolerancia en animales adultos, en los cuales se modifican las dosis del Ag, los esquemas y las vías de aplicación del mismo; sin embargo, poco se sabe aún de los mecanismos de tolerancia (9).

Existen diferencias en los marcadores de superficie entre las células de memoria y lo que podríamos llamar las células nativas. Las células nativas expresan niveles altos de linfocitos con receptor común de leucocitos CD45R, y de moléculas L-selectinas y niveles bajos de CD44, con respecto a las células T de memoria. Además de estas diferencias en los fenotipos, las células T de memoria y las células nativas difieren también en los patrones de secreción de linfocinas en respuesta a la estimulación con el Ag (10). Sin embargo, las células T de memoria, no son intrínsecamente diferentes de las células nativas, por lo cual la generación de un estado de memoria parecería más una consecuencia de la eliminación incompleta de las células efectoras generadas durante la respuesta primaria. Lo anterior se apoya en los estudios realizados con poblaciones monoclonales de células CD8+, derivadas de ratones transgénicos TCR LCMV-específicos, las cuales al ser transferidas a hospederos infectados con LCMV, sufren una proliferación masiva seguida de la eliminación clonal de las células que respondían inicialmente e induce una tolerancia funcional.

La eliminación completa de las células T en este modelo, se presenta cuando las células son expuestas a dosis altas del Ag. Cuando la dosis del virus es baja, la respuesta proliferativa de las células CD8+, es más intensa y el virus es eliminado rápidamente. En esta situación, sin embargo, la eliminación clonal de las células que responden (muchas de las cuales tienen función efectora), es sólo parcial y de las que sobreviven resulta la memoria. Lo anterior confirma la relación tan estrecha que existe entre la memoria inmune, la tolerancia y la dosis del Ag, en la determinación de la respuesta primaria. En términos de la afinidad del TCR, las células T de memoria formadas en este modelo son probablemente idénticas a las células efectoras generadas en la respuesta primaria y las descendientes directas de éstas.

TEORÍAS ACERCA DE LA MEMORIA INMUNE

Existen diferentes mecanismos propuestos para el desarrollo de la memoria inmune. El primer modelo convencional establece la presencia de células de memoria especializadas para tal función.

Un segundo modelo, el adaptativo, supone que la memoria depende de una estimulación continua por un antígeno, de la cual resulta la activación de las clonas responsables de la memoria.

Un tercer modelo concilia los dos anteriores proponiendo que la memoria se deriva de la persistencia de un Ag que estimula a las células especializadas.

MEMORIA POR CÉLULAS ESPECIALIZADAS DE LARGA VIDA EXPANDIDAS CLONALMENTE

La duración de la memoria producida por agentes infecciosos puede perdurar por más de 75 años, lo cual hace pensar en la existencia de clonas celulares de vida media muy larga. En este caso el establecimiento rápido y la respuesta intensa a la reinfección resulta en un incremento en el número de células específicas contra el Ag, las cuales sufrieron una expansión clonal durante la respuesta primaria. Usando técnicas de dilución, muchos estudios han demostrado que el número de células reactivas específicas al antígeno se incrementa hasta 50 veces después de la primera inmunización.

La vida media relativamente larga de muchos linfocitos, favorece la idea de que la memoria puede ser mantenida por medio de estas células de larga

duración; sin embargo, no hay una demostración formal clara de éstas y el mantenimiento de estas clonas a través del tiempo parece ser la hipótesis más factible.

Al usar técnicas para marcar células en división, se ha encontrado que después de la fase inicial de proliferación, debida a una inmunización primaria, las células B de memoria persisten, en ratones, por largos períodos de tiempo sin tener división celular. Por otro lado se ha observado que la memoria se presenta para células T en respuesta a *Mycobacterium tuberculosis* aún bajo tratamiento con ciclofosfamida o radiación ionizante que inhiben la división celular, lo que sugiere que la memoria inmune resulta de la presencia de células T de memoria de larga vida y no de su expansión clonal.

Lo anterior permite plantear la siguiente pregunta, ¿Hasta qué punto durante la respuesta inmune primaria o secundaria son generadas o expandidas las células de memoria de vida media larga? No se sabe si las células efectoras pueden realizar la transformación a células de memoria o los linfocitos nativos pueden tomar distintas rutas de diferenciación, después de la estimulación con el antígeno, hacia células efectoras o hacia células de memoria o si la estimulación provoca una expansión clonal específica de células especializadas; todo ello gracias al contacto con el antígeno y debido a las señales en el microambiente. Las células T efectoras pueden revertirse hacia células más pequeñas que se han caracterizado como células de memoria en reposo; sin embargo, también se han observado células que persisten como células activadas. Si estas células son transferidas a un hospedero persisten por períodos largos y desarrollan clonas y memoria inmune.

Otra evidencia de que la memoria puede ser llevada a cabo por células T de vida media prolongada en condición latente, es la observación de que los linfocitos T citotóxicos de memoria, mantenidos *in vitro,* se hacen más pequeños que las células efectoras y se mantienen sin división durante meses.

La hipótesis de que la célula efectora se transforma en célula de memoria, también puede apoyarse con estudios fenotípicos que muestran que las células T efectoras-activadas y las células T de memoria tienen fenotipos similares por ejemplo, $CD45RO^+$ y los que expresan alto contenido de proteínas de adhesión^{hi}. Sin embargo las células de memoria son más pequeñas que las células efectoras y ligeramente más grandes que las células T nativas, con las cuales tampoco tienen diferencias importantes en sus fenotipos.

A pesar de todas las evidencias anteriores, la producción de las células T de memoria en el curso de la estimulación primaria no ha podido ser confirmada plenamente y estará en espera de las herramientas más adecuadas y conocimientos más profundos que actualmente se desarrollan en esta y otras áreas de la investigación (11).

Por su parte las células B de memoria y las efectoras parece ser que se desarrollan por rutas alternativas de diferenciación. Las células plasmáticas producidas después de la interacción con el antígeno finalmente se diferencian, donde células B pequeñas de memoria IgG^+ todavía presentan la capacidad de diferenciación hacia células plasmáticas.

MANTENIMIENTO DE LA MEMORIA POR ESTIMULACIÓN ANTIGÉNICA CONTINUA

A pesar de que esta idea fue planteada desde hace mucho tiempo, la inmunología moderna sólo la vuelve ha considerar, cuando se observa que la respuesta inmune secundaria decae en las células B de memoria, transferidas a un hospedero en ausencia del antígeno. Lo cual no sucede en aquellas transferidas a otro hospedero al que sí se le continuó la estimulación antigénica específica y en el cual las células sobrevivieron indefinidamente (12).

Las células dendríticas foliculares (FDC) de los nódulos linfáticos dentro de los folículos primarios y centros germinales son uno de los elementos más importantes en los mecanismos que permiten atrapar al antígeno y estas células sirven como un depósito de antígeno por tiempos prolongados. Los complejos antígeno-anticuerpo formados se depositan sobre las FDC vía Fc o receptores C3. En esa forma los antígenos pueden ser retenidos en las FDC en su forma nativa por al menos un año y son capaces de estimular constantemente a las células B antígeno-específicas y posiblemente a las células T.

Estos complejos son capturados y procesados por las células B de memoria que presentan antígeno en

el contexto de moléculas de MHC clase II para linfocitos T cooperadores CD4+, que también ayudan a la diferenciación de las células B hacia células plasmáticas. Este mecanismo puede llevar a una estimulación de tiempo prolongado tanto de células T como B que resultan en la producción continua de anticuerpos.

Si los nódulos linfáticos, los cuales retienen al antígeno, son removidos de un ratón previamente inoculado con un antígeno, se presenta una disminución de los títulos de anticuerpos. Esto sugiere que las células plasmáticas están continuamente produciéndose en el organismo. Esto explicaría cómo es que se han encontrado células productoras de anticuerpos específicas para el virus de la influenza en pulmón y bazo de ratones, 18 meses después de la infección primaria con el virus.

Existen otros fenómenos que pueden almacenar antígeno y estimular constantemente a las clonas de B y T. Algunos virus persististen en el hospedero después de una respuesta inmune activa como sucede con el virus Epstein-Barr (EBV) y el virus de la inmunodeficiencia de los humanos (HIV).

Se sabe que la infección con la influenza desarrolla una respuesta inmune que protege a los individuos hasta por 6 años, mientras que la inmunización con el virus inactivado proporciona una protección de sólo un año. Esto puede ser debido a su capacidad inmunogénica pero podría estar relacionado con el desarrollo de otros factores propios de la infección.

MEMORIA EN LAS REACCIONES CRUZADAS

Con el uso de modelos animales se puede examinar el papel de las reacciones cruzadas de antígenos en el mantenimiento o incremento en la respuesta de anticuerpos. Por medio de ciertas líneas de trabajo, se ha examinado el efecto de las infecciones secundarias por diferentes patógenos sobre las respuestas de anticuerpos antivirales preexistentes. En ciertas circunstancias la memoria inmune puede ser estimulada por el contacto con otro Ag (reacción cruzada), el cual desarrolla fenómenos inmunológicos que resultan en la estimulación de una respuesta similar a la obtenida por la presentación secundaria del Ag específico, debido a lo que se puede llamar un efecto de vigilante "bystander" (13). Esto es posible gracias a que existen anticuerpos que presentan afinidades similares hacia un mismo epitopo, lo cual implica que puede reconocer y se puede unir a más de un Ag.

Otra posibilidad es que la respuesta secundaria sea inducida por un Ag diferente pero relacionado estrechamente con el Ag que inició la respuesta primaria; este efecto se conoce comúnmente como "pecado original antigénico".

Las células de memoria son más sensibles y responden más rápidamente que las células nativas, de modo que un Ag puede inducir reactividad cruzada aún cuando los receptores antigénicos presenten baja afinidad por él. Es por ello que algunas clonas de células T específicas para cierto antígeno, en el contexto del mismo MHC, pueden reconocer aloantígenos o péptidos en asociación con otros alelos del MHC. Otros ejemplos de esta reactividad cruzada se tienen en individuos que sin historia de exposición a ciertas enfermedades presentan células T específicas; tal es el caso de la malaria y el tétanos. También es bien conocido que la infeccion primaria (primoinfección) con un serotipo de virus puede generar inmunidad hacia otros serotipos asociados (14).

CONCLUSIONES

Todo parece indicar que el continuo contacto del sistema inmune con antígenos residuales, es muy importante para la aparición y persistencia de la memoria temprana; la cual a su vez depende de la correcta estimulación de la proliferación de las clonas altamente específicas y de la rápida eliminación de células, con receptores con baja afinidad por el Ag, lo cual implica que la muerte celular y, más aún, la muerte clonal, es una característica fundamental en el logro de una respuesta inmune efectiva y la aparición de la memoria inmune. La eliminación clonal de la mayoría de los linfocitos al final de la respuesta primaria, hace que la memoria inmune sea vista como una respuesta causada por unas cuantas células que escapan a la muerte inducida por el antígeno. En este sentido, la lógica del sistema inmune sería seleccionar a las células de memoria entre aquellas que tienen receptores con una alta afinidad por el Ag y promover la muerte celular para todo el resto de las células que entran en contacto con el Ag.

Pero, ¿cómo se logra lo anterior? La dosis de antígeno que se encuentra en estos dos estados puede ser un factor crucial. Durante la respuesta primaria, los linfocitos encuentran cantidades elevadas de antígeno, lo cual estimula a las células nativas, aún las que presentan receptores de baja afinidad por el Ag. En esta forma los linfocitos nativos estarían bien equipados para estimularse y actuar con grandes cantidades de antígeno. Bajo estas condiciones, las células nativas inician una rápida secuencia de proliferación y de diferenciación hacia células efectoras, lo cual asegura que el agente infeccioso es eliminado lo más rápidamente posible.

Sin embargo, como resultado de la estimulación exhaustiva (hiperestimulación), se pierde el contacto con los factores de crecimiento. Es por ello que la vida media de las células efectoras es breve y son eliminadas rápidamente, al final de la respuesta inmune (15).

La siguiente exposición al Ag o la presencia de Ag residual permite la exposición sólo a bajas concentraciones del Ag, por lo cual únicamente las células con receptores de muy alta afinidad pueden persistir estimuladas.

PERSPECTIVAS

La memoria inmune está interconectada y casi siempre es inseparable de otros campos de investigación en inmunología, tal como la tolerancia, la diferenciación de linfocitos, el desarrollo de vacunas, los transplantes y la autoinmunidad. Las controversias y la incertidumbre en ciertos aspectos concernientes a la relación precursor-producto en subgrupos de células T y B, su comportamiento funcional y su vida media tendrán que ser resueltas.

Un entendimiento completo de la memoria inmune, requerirá una definición molecular de las células de memoria así como el elucidar los mecanismos que mantienen la inmunidad de tiempo prolongado. Sabemos que el entendimiento de la memoria inmune es esencial para determinar porqué la inmunidad es de larga duración en algunos casos y de corta en otros. La experimentación moderna no tardará en descubrir cual es el papel y el peso específico de cada uno de los mecanismos que participan en el fenómeno de la memoria inmune. Las respuestas para todas estas preguntas tendrán un profundo impacto en el desarrollo de estrategias efectivas de vacunación.

REFERENCIAS

1. William EP (1993) Fundamental Immunology. 3th Edition. Raven Press. New York pp. 1211-1251.
2. Hall BM, Dorsch SE (1991) Cell Mediating Allograft Rejection. Tranplant *51*: 1141-1149.
3. Gray D (1993) Immunological Memory. Annu Rev *11*: 49-77.
4. Brausnstern H, Thomas S e Ito R (1990) Immunity to measles in a large population of varying age. Am J Dis Child. *144*: 296-298.
5. Strasser A, Harris A y Cory S (1991) Bcl2 transgene inhibits T cell death and perturbs thymic self-sensor ship. Cell *67*: 889-899.
6. Linton PJ, Rudie A y Klimman NR (1991) Tolerance susceptibility of newly generating memory B cell. J Inmunol. *146*: 4099-4104.
7. Künding MT, Bachman FM, Ohashi SP y Zinkernagel MR (1996) On T cell memory argument for antigen dependence. Inmunol Rev. *150*: 63-89.
8. Doherty CP, Topham JD y Tripp AR (1996) Establishment and resistence of virus specific CD4+ and CD8+ T cell memory. Inmunol Rev. *150*: 24-43.
9. Webb S, Morris C y Sprent J (1990) Extrathymic tolerance of mature T cell. Clonal elimination as a consequence of inmunity. Cell. *63*: 1249-1256.
10. Mackay CR (1993) Inmunological memory. Adv Inmunol. *53*: 217-265.
11. Cheever MM, Thompson DB, Klarnet JP y Greenberg PD (1986) Antigen-driven long term-cultured T cells proliferate *in vivo*, distribute widely, mediate specific tumor therapy and persist long term as functional memory T cells. J Exp Med. *163*: 1100-1112.
12. Linton PL, Decker DJ y Klinman NR (1989) Primary antibody-forming cells and secundary B cells are generated from separate precursor cell subpopulation. Cell. *59*: 1049-1059.
13. Zinkernagel RM (1990) Antiviral T cell memory. Curr Top Microbiol Immunol. *159*: 65-67.
14. Ahmed R (1994) Virus Persistence and immune memory. Seminars in virology. Vol. 5 pp 319-324.
15. Sprent J (1991) T and B memory cells. Cell. *76*: 315-322.

INVESTIGACIÓN BÁSICA CONTRA TECNOLOGÍA

Mario Bunge, distinguido maestro de ciencias físicas y filosóficas, conocido principalmente por su libro titulado: "La investigación científica" (Editorial Ariel, Barcelona, 1969), cuya dimensión y profundidad son verdaderamente enormes, dijo en alguna ocasión, que los paises en desarrollo deberían colaborar entre sí, para estudiar conjuntamente los problemas básicos de la filosofía de la ciencia y programarse dentro de la investigación básica a fin de crear algunas tecnologías originales que pudieran permutarse ventajosamente con las extranjeras.

Aunque las palabras no reproduzcan exactamente lo dicho por Bunge, al menos, la idea fundamental se apoya en la dependencia absoluta del progreso de la tecnología sobre los avances de la investigación básica. Inclusive, recuerdo que sugería la creación de un instituto Latinoamericano de Investigaciones Filosóficas.

Desgraciadamente para la mentalidad de nuestro tiempo, tales planes carecen de sentido, pues debido a la preeminencia de los intereses políticos y económicos sobre todos los demás, una colaboración hispanoamericana en el campo de la investigación pura, resultaría sólo entretenimiento de eruditos y holgazanes burgueses.

Sin embargo, ya existen algunos autores que han observado que la investigación básica es a largo plazo más rentable que la investigación aplicada y proponen como ejemplo la inutil búsqueda de los virus que podían haber sido la causa del cáncer humano y que en unos pocos años costó a los norteamericanos la modesta suma de 250,000 millones de dólares. Esto sucedía a partir del año de 1971 en que fue promulgada en los Estados Unidos la ley nacional sobre el cáncer. Por esas fechas la industria farmacéutica había realizado, en animales de laboratorio, más de 250,000 ensayos biológicos de diversas sustancias supuestamente anticancerosas.

De entonces a la fecha, es incalculable la inversión económica en este tipo de investigación aplicada, que nos demuestra que los caminos del empirismo son ineficaces para lograr un verdadero progreso de la ciencia y por añadidura despilfarradores de mucho dinero.

Aunque repugna estar haciendo cálculos económicos cuando hablamos de la salud, el sistema social en que vivimos no nos permite otra opción.

No se debe perder de vista, que tanto lo económico como los demás objetos materiales, deben ser siempre simples medios al servicio de los fines propiamente humanos.

Los economistas norteamericanos han comprobado repetidamente, que el aumento en el porcentaje del presupuesto nacional bruto destinado a la investigación y desarrollo, produce un interés socieconómico 10 veces mayor que el que pudiera obtenerse con el interés bancario.

Por ejemplo, dice Alvin Silverstein (The conquest of life, 1979, MacMillan Publishing Co, New York, NY, USA): *"en el caso de vacunas costó 41 millones de dólares y su uso en los 7 primeros años, después de su aprobación, otros 612 millones. De no haberse invertido esta suma y no haberse descubierto vacunas eficaces contra la poliomielitis, durante estos 7 años, unas 154,000 personas hubiesen padecido parálisis provocada por casos de polio y de ellas unas 12,500 habrían muerto. Los costos de la hospitalización y asistencia a estas víctimas de la poliomielitis, habría ascendido a 327 millones de dólares y los ingresos perdidos en concepto de muerte e incapacitaciones, a 6,400 millones"*.

Imaginemos por un momento, que un grupo de investigadores, a partir de la información disponible, llegara a concebir una idea para la curación del cáncer. Tomemos por caso el empleo de una enzima como la desoxirribonucleasa cuya acción se describe en cualquier libro elemental de bioquímica; esta enzima es capaz de hidrolizar a los ácidos desoxirribunucleicos y por ello disminuir el ritmo metabólico de su síntesis en la célula cancerosa, en la que la tasa de esa síntesis es como 6 veces mayor que en la célula normal.

La fuente natural de la desoxirribonucleasa puede ser entre otras, el veneno de la serpiente de cascabel, siendo su obtención barata y simple. Pensemos supuestamente, que ésta fuera la verdadera curación del cáncer ¿qué proyección económica podría representar para el país subdesarrollado que monopolizara esta "mercancía"?

Esta ocurrencia, desde el punto de vista de la investigación básica, puede ser tanto o más lógica que la que han tenido algunos investigadores de la Universidad de San Francisco, California, al preguntarle a la computadora

del Programa Profeta cuál de 3 sustancias determinadas, supuestamente anticancerosas, podría unirse al ADN de la célula cancerosa por mayor tiempo, pues los investigadores hipotetizan que la molécula que bloquee por más tiempo al ADN, tiene mejores posibilidades de curar el terrible mal.

Las sustancias utilizadas para tal propósito por los investigadores de referencia, son artificiales y por tanto extrañas al organismo; se deduce, pero además se ha confirmado, que los efectos colaterales pueden ser tan nocivos como la propia enfermedad que se trata de combatir.

No sería más sensato, preguntarle a la computadora profeta; si ¿la desoxirribonucleasa es capaz de romper la información anormal de la célula cancerosa, no sería más adecuada para la posible curación de la más dramática de las enfermedades que amenaza al hombre, en virtud de que la enzima es nativa de todo organismo viviente y que por sus funciones es muy parecida aún entre las más diversas especies?

La tecnología *versus* investigación básica, en los ejemplos citados ¿dónde comienza una y dónde aparece la otra?

El ordenador electrónico es la consecuencia tecnológica de la investigación básica consistente en el conocimiento previo de los mecanismos de la memoria aplicados a los circuitos electromagnéticos construidos con materiales adecuados.

Las respuestas que prodiga la máquina están siempre orientadas por la pregunta que le plantean los investigadores y precisamente en ella, va implícita la teoría o la hipótesis que en todo caso fundamenta científicamente la cuestión propuesta. Es decir, si se le pide a la computadora información sobre moléculas con capacidad para unirse al ADN por más o menos tiempo, la contestación no podrá salirse de los límites establecidos por la misma pregunta. Igual cosa sucedería si se le interrogara sobre la ruptura del informe del mensaje contenido en el ADN y el destino de los nucleótidos producto de su hidrólisis.

En fin, en la forma de interrogar a la computadora se conoce la teoría o la hipótesis manejada por el investigador y por ende la profundidad de su preparación básica.

En otro sentido, podría afirmarse que a falta de un investigador calificado la maquina sería inutil, pero no sería lo mismo a *contrario sensu*, es decir, el investigador calificado en investigación básica bien puede prescindir de la máquina y establecer soluciones de orden tecnológico. En otras palabras, hacer desembocar sus hipótesis, en investigación aplicada de índole estrictamente pragmática. En esta virtud, es posible permutar investigación básica por tecnología, como sería el caso vergonzante de cambiar salud por dinero o vitalidad por satisfactores materiales.

Aunque la vida no es susceptible de valorarse en dinero, por desgracia el bienestar, en casi todos los casos, puede alcanzar precios muy elevados.

Como hemos dicho en otras ocasiones, también en los países pobres tenemos oportunidad de mejorar la información necesaria para confirmar y probar nuestras hipótesis, por lo que en este sentido no es justificable de ninguna manera achacar nuestro retraso a la falta de tecnología por que, repetimos una vez más, en la investigación básica está nuestra única oportunidad de hablarnos de tú con los países imperialistas, máxime que ellos, ensoberbecidos por su tecnología aplastante, están confundiendo al hombre con la máquina y la libertad con el automatismo.

Se sabe que el costo de las enfermedades cardiovasculares en Estados Unidos, asciende a 40,000 millones de dólares anuales desde los años 75 y por supuesto la cifra aumenta año con año. ¿Qué diríamos si nuestro país o cualquier otro de Latinomérica, descubriera la forma de erradicar dicho mal, causante del mayor número de muertes en el mundo? ¿Los resultados podrían calcularse? y esto no es ciencia ficción, porque es posible que el nudo gordiano de esas enfermedades radique en el bloqueo del efecto Pasteur por el efecto Cabtree o lo equivalente: la glicólisis anaeróbica de emergencia interrumpiendo el ciclo de los ácidos tricarboxílicos, con el resultado de una pérdida global en el balance energético celular.

Imaginemos que de un modesto grupo de investigadores de algún país en desarrollo saliese la clave para desatar el nudo gordiano causante de los trastornos cardiovasculares; recordando que la famosa fórmula Einsteniana de la energía fue dada a conocer después de que en 7 años, como lo manifestó el propio Einstein, no había pisado laboratorio alguno. Creemos ahora, estar en condiciones de predecir el resultado del enfrentamiento entre la investigación básica y la tecnología.

Heberto Alcázar Montenegro
Instituto de Investigaciones Científicas
Hans Selye, AC
Avenida San Bernabé 416 - 100D,
México 10200, D F

COMENTARIOS DE UN ARTÍCULO

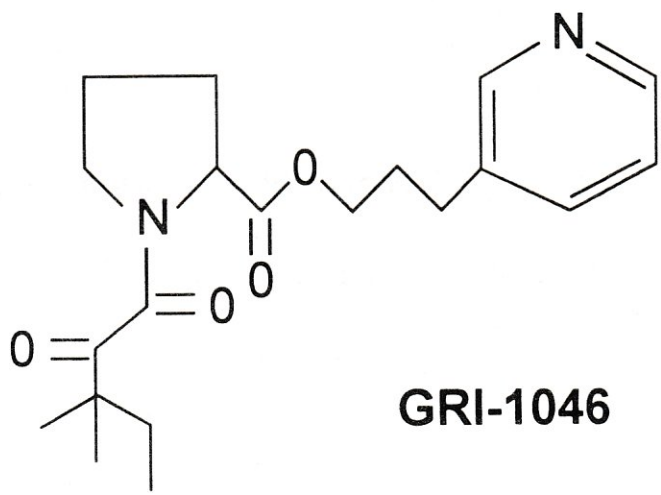
Steiner, JP, Connolly, MA, Valentine, HL, Hamilton, GS, Dawson, TM, Hester L y Snyder, SH, Neurotrophic actions of nonimmunosuppresive analogues of immunosuppresive drugs FK506, - Rapamycin and Cyclosporin A. Nature Med. *3* (4) 421-428 (1997).

En este interesantísimo artículo, se demuestra que algunos compuestos análogos de las drogas inmunosupresoras FK506, Rapamicina y Ciclosporina A que carecen del efecto inmunosupresor - estimulan el crecimiento de neuritas, tanto en células PC12 y cultivos neuronales sensoriales de raíces de ganglios dorsales, con potencia similar a la de sus homólogos inmunosupresores.

La potencia neurotrófica de los ligandos de la inmunofilina semeja sus potencias en la unión a la actividad inhibidora de rotamasa dc la FKBP-12 o ciclofilina. Puesto que los ligando de la inmunofilina están desprovistos de actividad inhibidora de la calcineurina, no es ésta la mediadora del efecto neurotrófico.

Los ligando de la inmunofilina son neurotróficos en animales íntegros. El tratamiento de ratas con el compuesto GRI-1046, con su nervio ciático machacado, permitió la recuperación tanto morfológica como funcional.

La notable potencia de estos compuestos, su biodisponibilidad y la disociación de las acciones neurotróficas de las inmunosupresoras, sugiere la relevancia terapéutica en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas como la de Parkinson y quizás algunas otras.



GRI-1046

Dr Guillermo Carvajal Sandoval
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN
e Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, SSA

FE DE ERRATAS

En el artículo "Funciones alternativas de las hemoglobinas" de Raúl Arredondo-Peter, publicado en el Volumen 16, número 2, páginas de la 39 a la 46, correspondiente a junio de 1997:

-- la Tabla I (pág 41)
Kon, dice: ($mM^{-1}\ s^{-1}$), debe decir: ($\mu M^{-1}\ s^{-1}$)
Koff, dice: ($mM^{-1}\ s^{-1}$) debe decir: (s^{-1})

-- en la pág 43, párrafo "Reacciones de Oxigenación y Unión de Moléculas Orgánicas"; dice:
...lo que significa una diferencia de 3.5 órdenes de magnitud.
debe decir:
...lo que significa una diferencia de 2.5 órdenes de magnitud.

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 Alvarez, 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 Muñiz, 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 Educacional 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

RUMBO AL VI CONGRESO
Tercer 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

SOCIEDAD MEXICANA DE BIOQUÍMICA

X CONGRESO DE BIOENERGÉTICA Y BIOMEMBRANAS

9 al 13 de Noviembre de 1997

Los temas que se incluirán en el programa son:

ESTRUCTURA Y DINÁMICA DE MEMBRANAS
ATPasas, ACARREADORES Y CANALES
TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES
CADENAS TRANSPORTADORAS DE ELECTRONES
METABOLISMO ENERGÉTICO

CONFERENCIAS

Three dimensional structure of cytochrome bc_1 complex from bovine heart mitochondria	C. A. Yu (Oklahoma State University)
Studies on cytochrome oxidase function	N. C. Robinson (University of Texas)
Structure and function of the plasma membrane H^+-ATPase	M.R. Sussman (University of Wisconsin)
Experimental control, analysis of the H^+-ATPase	H. V. Westerhoff (Free University, Amsterdam)
Confocal microscopy of mitochondrial membrane permeability changes	J. Lemasters (University of North Carolina)
Mitochondrial structure and function in intact cells	R. Rizzuto (University of Padova)

SIMPOSIO

Transporte transmembranal: Bombas, acarreadores y canales	A. Zaraín, G. Gamba y L. Vaca (México)

SEDE

El Congreso se llevará a cabo en el Hotel Spa Ixtapan, en Ixtapan de la Sal, Edo. de México, el cual se encuentra a 3 horas del D.F. Habrá transportación especial terrestre desde el CINVESTAV Zacatenco y la UNAM hasta la sede del Congreso. El costo aproximado será de $1,700.00 M.N. por persona en cuarto doble y que incluirá el alojamiento por 5 días y 4 noches, las tres comidas diarias, así como las memorias e inscripción al Congreso.

ENVÍO DE RESÚMENES E INSCRIPCIONES

A principios de julio se emitirán las instrucciones para la elaboración y entrega de resúmenes, así como para la inscripción al Congreso y la reservación del hotel.

INFORMACIÓN

Marina Gavilanes Ruiz
Depto de Bioquímica
Facultad de Química UNAM
Cd Universitaria, Coyoacán
México 04510, D.F.
Fax: 622-53-29
gavilan@servidor.unam.mx

Agustín Guerrero Hernández
Depto de Bioquímica
CINVESTAV IPN, D.F.
Apdo. Postal 14-740
México 07000, D.F.
Fax: 747-70-83
aguerrer@mvax1.red.cinvestav.mx

Rafael Moreno Sánchez
Depto. de Bioquímica
Instituto Nacional de Cardiología
Juan Badiano No. 1,
Col. Sección 16
México 14080, D.F.
Fax: 573-09-26

La información también estará disponible en la página de la Sociedad Mexicana de Bioquímica cuyas direcciones son:
http://vd4.ifisiol.unam.mx/smb/text/SMB_html_bionerg.htm
http://vd4.ifisiol.unam.mx/smb/smb.htm

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 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 específica 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.

BEB 97 Vol 16 Núm 3 Septiembre de 1997

CONTENIDO

EDITORIAL

LA SOCIEDAD MEXICANA DE BIOQUÍMICA CUMPLE 40 AÑOS
Alejandro Zentella Dehesa y
José Víctor Calderón Salinas 83

ARTÍCULOS

LOS GENES *RAS*, EL CICLO CELULAR Y EL DESARROLLO DE TUMORES
Carla Santana y
Alejandro García Carrancá 86

ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR PRIONES
Jaime Parés Hipólito y
José Víctor Calderón Salinas 92

LOS RECEPTORES METABOTRÓPICOS DE AMINOÁCIDOS EXCITADORES: CLASIFICACIÓN Y MECANISMOS DE TRANSDUCCIÓN
Gabriela Fragoso Contreras y
Ana María López Colomé 98

LA MEMORIA INMUNE
Gabriel Silva y
José Víctor Calderón Salinas 106

OTRAS COMUNICACIONES

INVESTIGACIÓN BÁSICA CONTRA TECNOLOGÍA
Heberto Alcázar Montenegro 113

COMENTARIOS DE UN ARTÍCULO
Guillermo Carvajal Sandoval 115

FE DE ERRATAS 116

CONVOCATORIAS

35 ANIVERSARIO DEL INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS Y PRECLÍNICAS "VICTORIA DE GIRÓN (ICBPVG)". LA HABANA,CUBA 117

RUMBO AL SEXTO CONGRESO
Tercer anuncio
La Mesa Directiva 118

SOCIEDAD MEXICANA DE BIOQUÍMICA. X CONGRESO DE BIOENERGÉTICA Y BIOMEMBRANAS 119

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 120