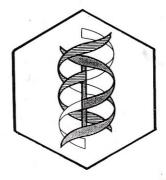
BEB 98

BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA



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

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

COMITÉ EDITORIAL

EDITORES FUNDADORES

ENRIQUE PIÑA GARZA

Facultad de Medicina Universidad Nacional Autónoma de México

GUILLERMO CARVAJAL SANDOVAL

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias e Instituto Politécnico Nacional

EDITORES

EDMUNDO CHÁVEZ COSÍO

Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez"

ALBERTO HUBERMAN WAJSMAN

Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán" SC

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

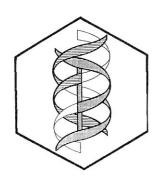
Escuela de Gerontología "Heberto Alcázar Montenegro" SC

ARACELI FLORIDO SEGOVIANO

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados Instituto Politécnico Nacional

ELISA MORA

Facultad de Medicina Universidad Nacional Autónoma de México



Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM



Facultad de Medicina, UNAM

Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, AC

BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (BEB), publicación trimestral de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, AC. Correspondencia: Comité Editorial, Apartado Postal 70-291, 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 1,300 ejemplares. Distribuidor: Servicio Postal Mexicano, Reg No PP-PROV-DF-119-95; UNAM-Depto de Bioquímica y Facultad de Medicina.

EDITORIAL

EL BEB Y EL DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNAM

Hablar del Boletín de Educación Bioquímica (BEB), es por necesidad hablar del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. Ningún lector del BEB, podría evitar esta asociación y nadie debiera hacerlo. Porque, si bien el BEB es el órgano informativo de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C., la inquietud por crear una revista nació mucho antes que nuestra Asociación, dentro del VIII Taller de Educación Bioquímica, realizado en Oaxtepec, Morelos en 1981. En esa reunión, el Dr. José Antonio Holguín Hueso, concretó las inquietudes de varios profesores al solicitar un foro en el que se pudieran discutir con mayor frecuencia las necesidades de los profesores de bioquímica que asistían al Taller. El Dr. Enrique Piña Garza, en aquel entonces Jefe del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM, se comprometió a explorar la posibilidad de generar una publicación periódica. El resultado fue que hace 17 años, en una serie de reuniones realizadas en la sala de juntas del mismo Departamento, el BEB cobró vida. En marzo de 1982, se publicó el primer número del BEB, cuyo Consejo Editorial quedó conformado por los siguientes investigadores, cuyos nombres aparecieron en el siguiente orden:

- Alfonso Cárabez Trejo, del Centro de Fisiología Celular de la UNAM.
- Guillermo Carvajal Sandoval, de la Escuela de Ciencias Biológicas del IPN.
- Alberto Hamabata, del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN.
- José Antonio Holguín Hueso, del Instituto Nacional de Cardiología.
- Jesús Manuel León Cázares, del Centro de Fisiología Celular de la UNAM.

- Enrique Piña Garza, del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM.
- Manuel L. Robert, de la Facultad de Química de la UNAM.
- Sergio Sánchez Esquivel, del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM.
- Saúl Villa Treviño, del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN.

A pesar de la influencia que el Departamento de Bioquímica ha tenido sobre el BEB a lo largo de su vida, la preocupación por tener la representatividad académica más amplia posible en la conducción de la revista, ha estado presente desde la concepción misma del BEB, incluyendo el punto de vista de diversas instituciones dedicadas a la docencia y a la investigación en bioquímica. Esto se ha reflejado en la diversidad de las adscripciones de quienes han formado parte del Comité Editorial o de quienes han servido como coordinadores editoriales o editores en jefe.

Así, el Departamento sirvió como nicho para el nacimiento del BEB, y desde entonces ha sido testigo de su desarrollo y maduración, de sus problemas y de la superación de los mismos.

Además del apoyo de los jefes del Departamento de Bioquímica, desde el Dr. Enrique Piña hasta la Dra.

Ana María López Colomé, el BEB también ha recibido el apoyo de los directores de la Facultad de Medicina, cubriendo los gastos de impresión de la gran mayoría de los 64 números del BEB. Este apoyo que se inició con el Dr. Carlos MacGregor, ha sido refrendado por muchos otros directores, incluyendo al Dr. Alejandro Cravioto Quintana, actual Director de la Facultad. A estos benefactores se han sumado en distintas épocas el Sistema de

Universidad Abierta y la Secretaría General de la Rectoría de la UNAM. Sin embargo, el estrecho vínculo entre el Departamento y el BEB queda de manifiesto si consideramos que exceptuando un periodo de dos años durante el cual, gracias a las gestiones negociadas por el Dr. Sergio Sánchez Esquivel, el Comité Editorial se reunió en el Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM, todas las sesiones de trabajo se han llevado a cabo en el Departamento. De hecho, hoy en día, la sede oficial del BEB, se encuentra en el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM.

El Departamento de Bioquímica, no sólo jugó un papel importante en la concepción del BEB, sino que también ha brindado las instalaciones para sesionar y realizar el trabajo editorial por la mayor parte de la existencia de la revista, cubriendo también de manera parcial, diversos gastos a lo largo de todos estos años. El Departamento incluso, ha absorbido en ocasiones los costos de impresión de la revista. Un apoyo estratégico ha sido la asignación de secretarias de tiempo completo del Departamento para apoyar al BEB, las cuales han realizado funciones esenciales para el adecuado funcionamiento del proceso de edición y manejo de la revista. El Departamento también ha provisto

apoyo logístico, al hacerse cargo de los servicios de correo y paquetería, fotocopias, servicio telefónico y de Fax, papelería y, recientemente, ha permitido el uso de su servidor para establecer nuestro correo electrónico y en breve una hoja de internet. Los apoyos brindados por el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM y por la Dirección de la misma Facultad, siempre han sido desinteresados, respetando la política editorial del BEB, lo que muestra la confianza al trabajo desarrollado por nuestra revista. Esta colaboración ha permitido a su vez, que el BEB contribuya en la medida de sus capacidades, a enfrentar la enorme responsabilidad que la Universidad Nacional Autónoma de México tiene en la divulgación de la ciencia y el apoyo docente al resto de las instituciones de educación superior del país.

Este editorial acompaña la inclusión del nombre del Departamento en nuestra contraportada, junto al escudo de la Facultad de Medicina y al de nuestra Asociación, como un merecido reconocimiento al Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México, por su continuo y generoso apoyo al BEB.

El Comité Editorial del BEB

PROTEÍNAS INSECTICIDAS DE Bacillus thuringiensis

J Eleazar Barboza Corona¹ y Jorge E Ibarra². ¹Instituto de Ciencias Agrícolas, Universidad de Guanajuato, Apartado Postal 311, CP 36500, Irapuato, Gto, México. ²Departamento de Biotecnología y Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Apartado Postal 629, C.P. 36500, Irapuato. Gto, México.

RESUMEN

Los bioinsecticidas más exitosos a nivel mundial son aquellos preparados con base en la bacteria Bacillus thuringiensis. Esta bacteria es ampliamente conocida por producir cristales con efectos insecticidas, constituidos de proteínas denominadas Cry, las cuales contienen un fragmento activo conocido como δ-endotoxina. Existen factores que afectan la capacidad insecticida de estas proteínas y que interfieren con el mecanismo de acción de las δ-endotoxinas, o sobre su residualidad y disponibilidad, una vez que se han aplicado en campo. Además de las proteínas Cry, esta bacteria también puede sintetizar otras proteínas insecticidas, las cuales carecen de similitud con las primeras: las proteínas citolíticas (Cyt), que actúan contra mosquitos y son líticas para una gran variedad de células in vitro, y las recientemente descubiertas proteínas insecticidas de origen vegetativo (Vip), las cuales son excretadas por la célula y son tóxicas para una gran variedad de lepidópteros.

PALABRAS CLAVE: Bioinsecticidas, proteínas Cry, proteínas Vip, proteínas Cyt.

ABSTRACT

Bacillus thuringiensis is the most successful microbial control agent worldwide, used in a great number of bioinsecticides. This bacterium produces insecticidal crystals which are constituted by proteins designated Cry, whose active fragment is called δ-endotoxin. Several factors can influence its insecticidal activity. These can affect the mechanism of action of the δ-endotoxins, or interfere with the residual activity and availability of the crystals after application in the field. In addition, this bacterium can synthesize other insecticidal proteins, which show no similarity with the Cry proteins: a) cytolytic proteins (Cyt), toxic to mosquitoes and with a broad in vitro cytolytic activity to many different cell types, and b) vegetative insecticidal proteins (Vip) which are secreted during the vegetative stage and show toxic effects against several lepidopteran.

KEY WORDS: Bioinsecticides, Cry proteins, Vip proteins, Cyt proteins.

INTRODUCCIÓN

El uso intensivo de insecticidas químicos como el malatión, paratión metílico, endosulfán y anizalina entre otros, tuvo su inicio en la década de los 40s con el propósito de atacar a las plagas insectiles. Lo anterior para ayudar a incrementar la producción de alimentos que requiere la población mundial, ya que estos organismos dañinos ocasionan estragos considerables, mermando más del 10% de la producción agrícola mundial. Sin embargo, el uso desmedido e irresponsable de este tipo de compuestos ha ocasionado consecuencias graves sobre la salud humana, la alteración de los ciclos biológicos en los ecosistemas al perjudicar su flora y su fauna, y ha favorecido la aparición de plagas resistentes y el surgimiento de otras nuevas. La necesidad de pesticidas más seguros y menos contaminantes ha estimulado en los últimos años el uso de microoorganismos entomopatógenos (bacterias virus, hongos y protozoarios) como una parte importante del control biológico de plagas. Dentro de las bacterias que producen proteínas insecticidas se encuentran Bacillus sphaericus y B. thuringiensis. Esta última destaca preponderantemente y se utiliza en los bioinsecticidas más exitosos a nivel mundial, a pesar de que algunos investigadores consideran que su papel en la naturaleza no es matar insectos. Su característica insecticida se basa en la producción de proteínas con esta propiedad denominadas Cry (protoxinas), las cuales al ser activadas (δ-endotoxinas) actúan como venenos estomacales contra una gran variedad de insectos, principalmente dentro de los grupos de lepidópteros, dípteros y coleópteros.

La producción industrial de *B. thuringiensis* es por fermentación en medio de cultivo líquido. Su presentación comercial es en forma de productos sólidos o líquidos, en donde el principio activo es una mezcla de cristales proteínicos (constituidos de las proteínas Cry)

y esporas de *B. thuringiensis* mezclados con diversos ingredientes que pueden incluir fotoprotectores, geles y espumas, entre otros (1).

PROTEÍNAS Cry

Debido a que en los últimos años se han descrito una gran variedad de genes de B. thuringiensis que codifican proteínas insecticidas, recientemente se ha propuesto que los genes cry se clasifiquen exclusivamente con base en la similitud de la secuencia deducida de aminoácidos de la proteína que codifican (2), sin tomar en cuenta el espectro de toxicidad, propuesto inicialmente por Höfte y Whiteley en 1989 (3). En la nueva nomenclatura se sigue usando el prefijo cry para los genes y Cry para las proteínas, pero seguido de un número arábigo en lugar de uno romano para indicar los grupos (por ejemplo Cry1, Cry2, Cry3 y Cry4), después una letra mayúscula y una minúscula para el subgrupo. Las proteínas holotipo (aquellas que se reportaron primero) pueden definir a nuevos grupos o a los diferentes subgrupos, los cuales a su vez están formados por una gran variedad de alelos o mutantes naturales (similitudes mayores al 95%). Por ejemplo, dentro del subgrupo de proteínas Cry1Aa están las variantes naturales Cry1Aa1, Cry1Aa2, Cry1Aa3, Cry1Aa4, Cry1Aa5 y Cry1Aa6. Hasta ahora, se han reportado 62 holotipos de proteínas Cry y una gran variedad de alelos, dando un total de 120 proteínas Cry (2).

Las proteínas Cry tienen masas moleculares que van de 70 hasta 140 kDa y están presentes en diferentes subespecies de B. thuringiensis, sin importar su distribución geográfica. La estructura de las proteínas Cry1 puede ser dividida en dos secciones: la mitad con el amino y la mitad con el carboxilo terminal. La mitad con el amino es la responsable de la toxicidad y la que tiene el carboxilo terminal se cree que interviene en el proceso de cristalización. Esta última se caracteriza por ser altamente conservada (80%) entre las proteínas Cry1; además, posee varias cisteínas que son esenciales para la formación de enlaces disulfuro intercadena y en consecuencia de multímeros de protoxinas, los cuales conducen a la formación de los cristales (3) (Fig. 1).

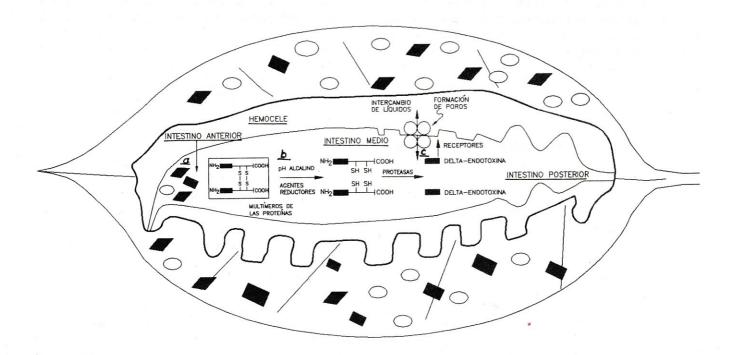


Figura 1. Representación esquemática del mecanismo de acción de las proteínas Cry de Bacillus thuringiensis. La figura representa un insecto sobre una hoja a la cual se le ha asperjado un producto comercial de B. thuringiensis que contiene cristales insecticidas (indicados por rombos negros) y esporas (indicadas por elipses), tal y como sucedería en el campo. (a) Los cristales formados de multímeros de proteínas Cry son ingeridos. (b) Se solubilizan en el intestino medio del insecto y liberan las protoxinas, las cuales son digeridas por las proteasas del insecto produciendo las δ-endotoxinas. (c) Las δ-endotoxinas se unen a los receptores de membrana presentes en el intestino medio ocasionando la formación de poros líticos y la posterior muerte del insecto. Las nervaduras de las hojas están representadas por rayas.

En general, la forma del cristal es un buen indicador de la especificidad de B. thuringiensis. Por ejemplo, los cristales bipiramidales (patotipo I o A) muestran toxicidad para lepidópteros, los amorfos (patotipo II o B) para mosquitos y los cuadrados aplanados (patotipo III o C) para coleópteros. Los cristales pueden estar formados de una sola proteína como en B. thuringiensis kurstaki HD-73, donde sus cristales contienen únicamente la proteína Cry1Ac. También se puede dar el caso de que varias proteínas puedan co-cristalizar juntas como en B. thuringiensis kurstaki HD-1, donde las proteínas Cry1Aa, Cry1Ab y Cry1Ac forman el cristal bipiramidal (3). El cristal puede ser muy complejo, como el observado en B. thuringiensis morrisoni, donde tres proteínas Cry4, una Cry1A y una Cyt, cristalizan en varias inclusiones unidas por una cubierta membranosa (4).

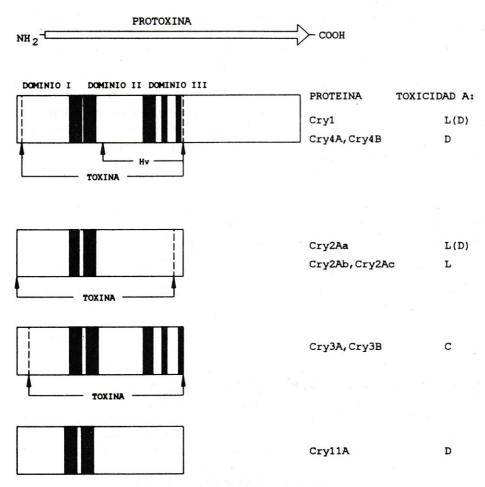


Figura 2. Representación esquemática de algunos tipos de protoxinas. Se indica la presencia de regiones conservadas de aminoácidos en las proteínas Cry (barras oscuras) las cuales están alternadas con secuencias de gran variación (región hipervariable: Hv). Con flechas se muestran los sitios de proteólisis que dan origen a la formación de las δ-endotoxinas. Se presentan las regiones de la toxina que comprenden los diferentes dominios de la estructura tridimensional de la toxina. También se indica la especificidad de algunas proteínas Cry. L indica lepidópteros; D, dípteros y C, coleópteros. Modificado de (12).

Únicamente se ha reportado las estructuras tridimensionales de las toxinas Cry3A y Cry1Aa, a partir de análisis cristalográficos, las cuales, a pesar de presentar poca similitud entre sus secuencias de aminoácidos (36%), presentan una estructura tridimensional casi idéntica. Ambas proteínas constan de tres dominios, encontrándose la mayor similitud estructural entre estas toxinas en el dominio III, seguido del I y II. Basándose en estos resultados, podemos asumir que todas las proteínas Cry tienen estructuras terciarias similares (5). Adicionalmente, las proteínas Cry tienen regiones conservadas de aminoácidos, alternadas con secuencias de gran variación entre las proteínas Cry conocida como región hipervariable (Hv) (3) (Fig. 2).

El dominio I de la toxina Cry1Aa, que se extiende del aminoácido 33 al 253, está formado por ocho hélices α y contiene a la primera región conservada

y parte de la segunda. Al parecer, este dominio es el responsable de penetrar en la membrana y formar los poros líticos (ver MECANISMO DE ACCIÓN). Sin embargo, no se descarta que algunos de sus residuos puedan interactuar con las regiones de especificidad, dada su cercanía en la estructura tridimensional. A pesar de que este dominio no tiene similitud a nivel de secuencia de aminoácidos con los dominios formadores de poros líticos de otras proteínas (colicina A y la toxina de la difteria), sus estructuras tridimensionales son muy similares (5).

El dominio II de la proteína Cry1Aa se extiende aminoácido 265 al 461 y está formado por tres hojas β antiparalelas y dos pequeñas hélices a. Además de la región hipervariable, presente en las secuencias Cry, aquí se incluyen parte de la segunda región conservada y parte de la tercera. En el dominio II de las proteínas Cry se ha encontrado regiones que se unen a los receptores y determinan la especificidad tóxica (5). Se ha tratado de dilucidar las regiones de aminoácidos que determinan la especificidad insecticida dentro de las proteínas

Cry. Algunas estrategias se han basado en la construcción de quimeras (intercambiando pequeños fragmentos peptídicos), o bien por mutagénesis al azar o dirigida. La inestabilidad de las quimeras al ataque de proteasas y la incapacidad de algunas toxinas para matar al mismo insecto, han impedido una buena interpretación de los datos de toxicidad. Uno de los primeros experimentos que demostró la importancia del dominio II en la especificidad insecticida, fue el realizado por Shivarova y col. en 1989 (6). Estos investigadores lograron que la proteína Cry1Ac, normalmente no tóxica para el gusano de seda (Bombyx. mori), presentara efecto tóxico (lo que tendría un impacto económico negativo) contra este insecto al intercambiar la región de los aminoácidos 332 a 450 con los de la proteína Cry1Aa (6). El ápice del dominio II está formado por tres asas: asa 1, aminoácidos 310-313; asa 2, aminoácidos 367-379 y asa 3, aminoácidos 438-446. Es importante señalar que la localización de las asas corresponde a las regiones que muestran las mayores diferencias estructurales entre las toxinas Cry1Aa y Cry3A (5). Las asas son regiones que al parecer están involucradas directamente en la unión al receptor, tal y como lo muestran los estudios realizados mediante mutagénesis dirigida hacia esas asas. Por ejemplo, la mutagénesis de los residuos 365 a 371 de la Cry1Aa logró suprimir la actividad tóxica para B. mori, lo que sería de gran beneficio en la industria de la seda, ya que se podría alterar la toxicidad para el gusano de seda sin alterar el efecto tóxico para otros insectos (7). Resultados similares han sido obtenidos con la proteína Cry1Ab, a la cual se le eliminó su actividad insecticida hacia Manduca sexta mediante mutagénesis de la segunda asa. Datos experimentales sugieren que la unión a los receptores está intimamente relacionada con la introducción de la toxina a la membrana. Esto al parecer es debido a que la toxina queda unida al receptor mientras ocurre un cambio conformacional que permite a la cadena a5 del dominio I penetrar en la membrana

El dominio III está formado por dos cadenas β antiparalelas, las cuales forman una estructura tipo «sandwich». Abarca del aminoácido 463 al 609, con una cadena β externa adicional formada por los residuos 254-264. En este dominio están incluidas una parte de la tercera región conservada, además de la cuarta y la quinta. Inicialmente se consideró que este dominio participaba únicamente en la protección contra la proteólisis y quizás en la formación de poros tóxicos; sin embargo, se ha demostrado su importancia como un determinante de la toxicidad de Cry1C hacia Spodoptera. exigua y Ma-mestra

brassicae. Además, resultados experimentales sugieren que algunos aminoácidos presentes en el dominio III de Cry1Ab y Cry1Ac pueden estar implicados en la unión a los receptores (5).

Las cinco regiones conservadas se localizan en la misma posición en la estructura tridimensional de Cry1Aa y Cry3A, y además están involucradas en el contacto entre los tres dominios. Lo anterior quizás es importante para dar estabilidad estructural a las proteínas Cry. La cuarta región conservada presente en el dominio III de Cry1Aa parece jugar un papel importante en la formación de canales iónicos (5).

GENES cry

Entre el 10 y el 20% de la información genética de B. thuringiensis se encuentra en unidades extracromosómicas (plásmidos) que presentan masas moleculares de 1.5 a 130 MDa. Los genes cry que codifican a las proteínas insecticidas Cry, están localizados en megaplásmidos mayores de 30 MDa. La mayoría de este tipo de genes se encuentran como unidades monocistrónicas (genes aislados, con sus propias secuencias reguladoras) y sólo en algunos casos forman parte de un operón (unidad genética que regula la expresión de varios genes). Varios de ellos están flanqueados por elementos (secuencias) de transposición, que les permite desplazarse (translocarse) dentro del genoma bacteriano (8).

La regulación de la expresión de los genes cry se realiza de manera espacial y temporal. Su transcripción normalmente depende de la esporulación, aunque existen algunas excepciones. Se ha identificado dos factores de transcripción sigma (σ^E y σ^K), los cuales son específicos para un promotor temprano (BtI) y otro tardío (BtII), respectivamente. Se ha demostrado que BtI es un promotor fuerte y que por sí solo es capaz de dirigir la expresión de altos niveles de toxina. A pesar de que no se ha determinado el inicio de la transcripción de todos los genes cry, se piensa que éstos pueden presentar tanto ambos promotores como únicamente uno solo (8). Por otro lado, el ARN mensajero de algunos genes cry son muy estables (vida media de 11 min.). Se ha observado que el ARN mensajero del gen crylAa tiene como características que es un retrorregulador positivo, actúa como un estabilizador dentro del mismo gen (estabilizador en cis) y la terminación de su transcripción es independiente del factor de terminación de rho. Su región terminal estabiliza al ARN mensajero (como se ha observado en otros genes, al final de los cuales se ha clonado) y se cree que los protege de la degradación exonucleolítica gracias a la estructura en horquilla que forma (9).

Entre los genes cry cuya transcripción no depende de la esporulación, se encuentran los genes cry3. El promotor del gen cry3A utiliza el factor de transcripción de la fase vegetativa o y, por lo tanto, su expresión se lleva a cabo aún en mutantes asporogénicas (incluso con mayores rendimientos que los de las cepas silvestres). A pesar de que varios estudios han confirmado que la activación de la expresión del gen cry3A es independiente del control de genes de esporulación, el o los genes involucrados en la regulación de su expresión no han sido identificados. Únicamente se ha logrado identificar que esta expresión depende de la región comprendida de -1 a -600 pares de bases con respecto al inicio de la traducción. La región localizada aproximadamente a -600 pares de bases es el promotor en el sentido estricto, y la encontrada a -129, es la responsable de estabilizar al ARN mensajero a un nivel postranscripcional. Lo anterior parece deberse a la presencia de una secuencia Shine-Dalgarno, la cual interacciona con la subunidad 16S del ARN ribosomal y lo estabiliza (8).

MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS PROTEÍNAS Cry

Para una gran cantidad de insectos, las proteínas Cry son venenos estomacales, por lo que su efecto está condicionado a que sean ingeridas. Su acción es mayor sobre larvas jóvenes que sobre aquellas más desarrolladas, ya que al crecer la larva, la relación área/volumen en el intestino medio (que es

donde actúan) disminuye, ocasionando que las células intestinales estén menos expuestas a las toxinas.

Después que el cristal de la bacteria (o el complejo espora-cristal) es ingerido por la larva de un insecto susceptible, éste es disuelto por las condiciones alcalinas y reductoras de su contenido intestinal, liberándose las proteínas (protoxinas). Posteriormente se digieren parcialmente mediante las proteasas intestinales del insecto, generando las toxinas activas o δendotoxinas. Éstas se unen de manera irreversible a receptores (aminopeptidasas o cadherinas) presentes en las membranas de las microvellosidades de las células del intestino medio, ocasionando la formación de poros que conducen a un hinchamiento y lisis celular; esto a su vez permite el intercambio de líquidos entre el intestino y el hemocele, ocasionando que el insecto se paralice, interrumpa su alimentación y eventualmente muera. Además, las esporas ingeridas y ahora en un medio casi neutro, germinan en el individuo paralizado, pudiendo en algunos casos causar la muerte por septicemia (3) (Fig. 1).

B. thuringiensis es inocuo al hombre, animales domésticos e insectos benéficos. Una respuesta posible a lo anterior pudiera ser que las aminopeptidasas y cadherinas presentes en los insectos susceptibles y que actúan como receptores de las δ-endotoxinas, difieran de las de otros insectos y animales, entre ellos el hombre.

FACTORES INTRÍNSECOS Y EXTRÍNSECOS QUE REGULAN LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE Bacillus thuringiensis

La patogenicidad de B. thuringiensis hacia diversos insectos depende de su capacidad para intoxicarlos. En forma general podemos clasificar a los factores que regulan la actividad de B. thuringiensis como intrínsecos, los cuales se relacionan con la activación de las δ -endotoxinas y a su modo de acción a nivel molecular, y extrínsecos, los cuales dependen de factores externos tanto al insecto como a los cristales (Tabla I).

TABLA I

FACTORES QUE REGULAN LA ACTIVIDAD DE LAS PROTEÍNAS INSECTICIDAS DE Bacillus thuringiensis.

FACTORES INTRÍNSECOS

- •Microambiente del intestino.
- -Solubilidad de las protoxinas.
- -Procesamiento de las protoxinas.
- Presencia de receptores.
- •Interacciones entre las diferentes proteínas del cristal (antagonismo, sinergismo).
- •Cantidad y tipo de proteínas.
- •Pequeñas diferencias en la secuencia de aminoácidos de las proteínas.
- Presencia de esporas.

FACTORES EXTRÍNSECOS

- •Radiación UV del sol.
- Viento.
- •Densidad poblacional de la plaga.
- •Edad de la plaga.
- Cobertura de aplicación.
- •Lluvia, alta humedad relativa.

La solubilización de los cristales es el primer paso en el mecanismo de acción de B. thuringiensis, por lo que se requiere que un insecto susceptible pueda disolverlos en su contenido intestinal, liberando de esta forma las protoxinas para que posteriormente sean transformadas en δ-endotoxinas. Por ejemplo, se ha reportado que los cristales tóxicos para lepidópteros son solubles en límites de pH entre 9 y 10.5, valores que corresponde al pH del contenido intestinal de muchos lepidópteros; sin embargo, algunos cristales no tóxicos son insolubles dentro de ese nivel de pH. Una vez que los cristales han sido solubilizados, las protoxinas libres deben ser parcialmente digeridas por las proteasas del insecto (tipo tripsina o quimotripsina), lo cual constituye un requisito para su activación. Esto lo corroboran algunos reportes de cepas consideradas no tóxicas, cuyas protoxinas Cry, aun cuando son solubilizables, no son digeridas por la tripsina y por lo tanto no se forma la δ-endotoxina.

Las interacciones entre las diferentes proteínas que componen un cristal insecticida son importantes para la toxicidad. Un ejemplo de las posibles interacciones es el reportado para *B. thuringiensis* ssp. *aizawai* HD133 cuyo cristal está constituido por las proteínas Cry1Ab, Cry1C y Cry1D. La presencia de la proteína Cry1Ab en los cristales ocasionó mayor toxicidad hacia *Plodia interpunctella* que los cristales producidos por cepas mutantes que no la tenían. Al parecer las interacciones estructurales de la Cry1Ab con las otras dos proteínas incrementó la solubilidad de los cristales, requisito indispensable para liberar las protoxinas (10).

La cantidad y el tipo de proteínas presentes en los cristales son factores importantes que determinan el nivel y espectro de toxicidad. Por ejemplo, las cepas NRD-12 y HD-1, ambas de *B. thuringiensis kurstaki*, poseen en su cristal bipiramidal las proteínas Cry1Aa, Cry1Ab y Cry1Ac; sin embargo, la primera es 2-3.5 veces más tóxica para *Cho-*

TABLA II

TOXICIDAD DE ALGUNAS PROTEINA Cry A LEPIDOPTEROS PLAGA DE

Nombre científico	Nombre común	Cultivo que ataca	Proteínas Cry tóxicas:
Plutella xylostella	Palomilla dorso de Diamante	Brócoli, coliflor, col de brucelas	CrylAa, CrylAb, CrylAc, CrylC, CrylF
Tricloplusia ni	Falso medidor	Ajonjoli, algodón, cártamo, brócoli, coliflor, chicharo, chile, espinaca, lechuga; perejil, tabaco, jitomate, col de brucelas, fresa, melón, pepino	Cry1Aa, Cry1Ac, Cry1C, Cry2A
Spodoptera exigua	Gusano soldado	Alfalfa, algodón, cacahuate, sandia, soya, jitomate	Cry1C
Spodoptera frugiperda	Gusano cogollero	Maiz	Cry1D, Cry1F
Heliothis virescens	Gusano bellotero	Cártamo, garbanzo, tabaco, jitomate	Cry1Ac, Cry1F, Cry2A
Helicoverpa zea	Gusano elotero	Algodón, cártamo, maiz, melón, sandia, jitomate	CrylAb, CrylAc, CrylF, Cry2A
Manduca sexta	Gusano del cuerno del tabaco	Tabaco, jitomate	CrylAa, CrylAb, CrylAc, CrylD
Pieris brassicae	Gusano importado	Brócoli, coliflor, col de Bruselas	CrylAa, CrylAb, CrylAc, CrylB, CrylC.
	de la col		

^{*} Solo se presentan algunas de las proteínas Cry más tóxicas a esos insectos.

ristoneura fumiferana y Lymantria dispar que la segunda. Lo anterior es debido a que los cristales de ambas cepas tienen diferentes proporciones de las proteínas Cry1Aa y Cry1Ab, y solamente la Cry1Ac está en cantidades similares (11). Por otro lado, a pesar de que la mayor parte de las proteínas Cry1A muestran actividad insecticida contra brassicae y M. sexta, cada una tiene toxicidad para otros lepidópteros; sin embargo, muestran mayor toxicidad hacia un insecto determinado. La proteína Cry1Aa es altamente tóxica para B. mori, Cry1Ab para S. exigua, Cry1Ac para Heliothis virescens, Cry1B para P. brassicae y Artogeia rapae; Cry1C para varias especies de Spodoptera, Cry1D para M. Sexta y Cry1E es ligeramente tóxica para S. exigua. Cry1F tiene un espectro de toxicidad similar al de la proteína Cry1Ab, ya que es tóxica para S. exigua, H. virescens y Ostrinia nubilalis; finalmente, Cry9A1 (relacionada a las Cry1) es tóxica para Galleria mellonella (3,12). En la tabla II se indica cómo algunas de las principales plagas de lepidópteros que son de importancia en la agricultura nacional, son susceptibles a diferentes proteínas Cry1; de igual forma, cómo estas proteínas insecticidas presentan toxicidad para varias especies de insectos.

Además de que una especie de insecto puede tener diferente susceptibilidad a una toxina en particular; también una toxina puede mostrar diferencias en el grado de toxicidad para varias especies de insectos. Hay varios reportes de toxinas consideradas variantes naturales o alelos de las proteínas Cry holotipo (2,3) y las cuales tienen pequeñas diferencias en la secuencia de aminoácidos; sin embargo, tanto la proteína variante como la holotipo, pueden mostrar diferencias significativas en la toxicidad para ciertos insectos.

La unión de las δ-endotoxinas a receptores de la membrana celular del intestino medio de los insectos es un factor crucial en el espectro de toxicidad de las proteínas Cry. Por un lado, un insecto puede tener uno o más receptores diferentes y por otro, varias δendotoxinas pueden competir por el mismo receptor, siendo la más tóxica aquella que tenga la mayor afinidad por ellos. Sin embargo, no siempre se ha observado una relación directa entre la toxicidad y afinidad por el receptor, e incluso se ha observado la unión de toxinas con receptores presentes en vesículas preparadas del intestino medio de insectos, a los cuales la toxina no mata en condiciones naturales. Actualmente se han purificado, caracterizado y clonado varios de los receptores para las proteínas Cry. Dichos receptores están anclados a la membrana de las células del epitelio intestinal por medio del glicolípido glicosilfosfatidilinositol y pertenecen a dos grupos: aminopeptidasas y cadherinas. Las aminopeptidasas son enzimas que remueven residuos localizados en el extremo amino de las proteínas y los aminoácidos liberados son transportados a través de las microvellosidades del intestino; dentro de este grupo se han reportado tres receptores de la proteína Cry1Ac, aislados separadamente de *H. virescens, M. sexta* y *L. dispar*. Las cadherinas en los insectos tal vez están involucradas en el transporte de péptidos a través de la membrana, de manera análoga a como lo hacen las cadherinas en el intestino humano; dentro de este grupo está el receptor de la proteína Cry1Ab aislado de *Manduca sexta* (13).

Dentro de los factores extrínsecos que degradan a los cristales proteínicos de B. thuringiensis una vez que se aplica en el campo es la luz UV, la cual es quizás el factor extrínseco más importante que ocasiona su baja residualidad (tiempo en que los cristales B. thuringiensis se mantienen activos como bioinsecticidas), la cual es de 3 a 4 días. Es por esta razón que se recomienda aplicar los productos comerciales de B. thuringiensis (ej. Javelin, CRYMAX, Dipel) durante la tarde o muy temprano en la mañana, para disminuir el efecto de la luz solar. La lluvia es un factor climatológico que podría tener efectos adversos sobre los cristales, ya que los lavaría de la superficie de las hojas, por lo que es recomendable el uso de adherentes en la mezcla de aplicación. El viento es otro factor climático que puede tener efectos adversos durante la aplicación, debido al arrastre al que se vería sujeta la aspersión, por ello es recomendable evitarla durante la prevalencia de este tipo de condiciones. También la densidad poblacional de la plaga es importante, va que se recomienda aplicarlo cuando hay una densidad poblacional baja; sin embargo, si es alta, es recomendable aplicar concentraciones altas a intervalos de aplicación cortos. Con respecto a la edad de las larvas de los insectos sujetos a control, es preferible tratar de controlar los primeros estadios larvarios, ya que las larvas más desarrolladas requerirían dosis significativamente mayores para lograr un nivel de control apropiado. Por último, una cobertura uniforme de la aplicación aumentaría la probabilidad de que el insecto ingiriera una dosis letal de los cristales (14).

PROTEÍNAS INSECTICIDAS VEGETATIVAS (Vip) Y CITOLÍTICAS (Cyt)

En 1996 se publicó por vez primera la existencia de las proteínas Vip en *B. thuringiensis*. Estas se producen desde la etapa vegetativa, pero su expresión continúa hasta la fase de esporulación. Son secretadas al exterior de la célula, por lo que se purifican a partir del sobrenadante del medio líquido en que se cultivan (15). Se han reportado

dos proteínas Vip: Vip3A(a) y Vip 3A(b), las cuales no tienen similitud con las proteínas Cry (2, 15). Sus masas moleculares son de aproximadamente 88 kDa y tienen actividad insecticida contra varios lepidópteros, tales como Agrotis ipsilon, S. frugiperda, S. exigua, H. virescens y Helicoverpa zea. Al igual que las proteínas Cry, actúan a nivel del intestino medio, ocasionando parálisis intestinal, lisis celular y finalmente la muerte de la larva (15).

Con respecto a las proteínas citolíticas (Cyt), éstas al igual que las proteínas Vip, carecen de similitud con las proteínas Cry. Se han clonado 9 genes cyt (2) y las masas moleculares de las proteínas que codifican son de aproximadamente 28 kDa. Al tratarse con varias proteasas producen fragmentos resistentes a la proteólisis de entre 22 y 25 kDa. Además de que actúan contra mosquitos, son citolíticas para una gran variedad de células in vitro (incluyendo células de mamíferos), a diferencia de las proteínas Cry, las cuales tienen especificidad para insectos; este espectro de actividad parece ser atribuido a su alta hidrofobicidad y a su habilidad para unirse a fosfolípidos de las membranas. Se encuentran en cepas mosquitocidas de B. thuringiensis, tales como las subespecies israelensis, morrisoni PG14, medellin y kyushuensis. Una de las características más importantes de estas proteínas es que actúan de manera sinergística con otras proteínas Cry (16).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al M.C. Adrián Flores Ortega del Departamento de Ingeniería Agrícola del Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Guanajuato, por la elaboración de las figuras y al CONACYT por la beca otorgada a JEBC para realizar sus estudios de Doctorado.

REFERENCIAS

- Rodríguez M M, De la Torre M M y De Urquijo N E (1991) Bacillus thuringiensis: Características biológicas y perspectivas de producción. Rev Lat-amer Microbiol 33: 279-292.
- 2. Crickmore N, Zeigler D R, Feitelson J, Schnepf E, Lambert B, Lereclus D, Baum J y Dean D H (1995) Revision of the nomenclature for the Bacillus thruringiensis pesticidal cry genes. En: Program and abstracts of the 28th annual meeting of the Society for Invertebrate Pathology. Society for Invertebrate Pathology, Bethesda, MD, p14.
- 3. Höfte H y Whiteley H W (1989) Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. Microbiol Rev 53: 242-255.

- 4. Ibarra J E y Federici B A (1986) Parasporal bodies of *Bacillus thuringiensis* ssp. *morrisoni* (PG-14) and *Bacillus thuringiensis* ssp. *israeliensis* are similar in protein composition and toxicity. FEMS Microbiol Lett 34: 78-84.
- Grochulski P, Masson L, Borisova S, Pustzai-Carev M, Schwartz J L, Brousseau R y Cyegler M (1995) Bacillus thuringiensis CryIA(a) insecticidal toxin: crystal structure and channel formation. J Mol Biol 254: 447-464.
- 6. Ge A Z, Shivarova N I y Dean D (1989) Location of the *Bombyx mori* specificity domain on a *Bacillus thuringiensis* d-endotoxin protein. Proc Natl Acad Sci USA 86: 4037-4041.
- Lu H, Rajamohan F y Dean D H (1994) Identification of amino acid residues of *Bacillus thuringiensis* dendotoxin CryIAa associated with membrane binding and toxicity to *Bombyx mori*. J Bacteriol 176: 5554-5559.
- 8. Agaisse H y Lereclus D (1995) How does *Bacillus* thuringiensis produce so much insecticidal crystal protein?. J Bacteriol 177: 6027-6032.
- Wong H C, Schnepf H E y Whiteley H R. (1983)
 Transcriptional and translational start sites for the
 Bacillus thuringiensis crystal protein gene. J Biol
 Chem 258: 1960-1967.
- Aronson A Y, Han E S, McGaughey W y Johnson D (1991) The solubility of inclusion proteins from Bacillus thuringiensis is dependent upon protoxin composition and is a factor in toxicity to insects. Appl Environ Microbiol 57: 981-986.
- 11. Masson L, Préfontaine L, Péloquin L, Lau P C K y Brousseau R (1989) Comparative analysis of the individual protoxin components in P1 crystals of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* isolates NRD-12 and HD-1. Biochem J 269: 507-512.
- 12. Aronson A J (1993) The two faces of *Bacillus* thuringiensis: insecticidal proteins and post-exponential survival. Mol Microbiol 7: 489-496.
- 13. Lee M K, You T H, Young B A, Cotrill J A, Valaitis A P y Dean D H (1996) Aminopeptidase N purified from gypsy moth brush border membrane vesicles is a specific receptor for *Bacillus thuringiensis* CrylAc toxin. Appl Environ Microbiol 62: 2845-2849.
- 14. Ibarra J E (1994) Patogenicidad de *Bacillus* thuringiensis. En: Patogenicidad de organismos parásitos de insectos. Editor: Lezama R. Universidad de Colima, Tecomán, Colima, México, pp 29-46.
- 15. Yu C G, Mullins M Å, Warren G W, Koziel M G y Struch J J (1997) The *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein Vip3A lyses midgut epithelium cells of susceptible insects. Appl Environ Microbiol 63: 532-536.
- 16. Said A, Al-yahyaee S y Ellar D J (1195) Maximal toxicity of cloned CtyA d-endotoxin from Bacillus thuringiensis subsp. israeliensis requires proteolytic processing from both the N- and C-termini. Microbiology 141: 3141-3148.

EL USO DE 1-ANILINO-8 NAFTALENOSULFONATO (ANS), PARA LA IDENTIFICACIÓN DE INTERMEDIARIOS EN LA RUTA DE PLEGAMIENTO DE PROTEÍNAS GLOBULARES

María Elena Chánez Cárdenas. Departamento de Bioquímica, Instituto de Fisiología Celular, UNAM, Apartado Postal 70242, 04510 D.F. México Tel. (525) 622 5657, FAX (525) 622 5630.

RESUMEN

La fluorescencia del 1-anilino-8-naftaleno sulfonato (ANS) es dependiente de la polaridad del ambiente, incrementándose conforme la polaridad disminuye. El aumento en la intensidad de la fluorescencia del ANS al unirse a regiones hidrofóbicas durante estudios de desnaturalización y renaturalización de proteínas in vitro ha permitido evidenciar la presencia de intermediarios que no tienen un empaquetamiento rígido en el interior de la proteína. Estos intermediarios se conocen como glóbulos fundidos y se han encontrado en la ruta de plegamiento de muchas proteínas globulares.

PALABRAS CLAVE: ANS, glóbulo fundido, fluorescencia, proteínas globulares, desnaturalización, renaturalización.

ABSTRACT

Fluorescence of 1-anilino-8-naphtalene sulfonate (ANS) depends on the polarity of the environment, increasing as the polarity diminishes. The increase in fluorescence intensity of ANS bound to hydrophobic regions during denaturation and renaturation studies of proteins has led to the identification of folding intermediates that lack rigid packing at the center of the molecule. These intermediary states are known as molten globules and have been found in many folding routes of globular proteins.

KEY WORDS: ANS, molten globule, fluorescence, globular proteins, denaturation, renaturation

INTRODUCCIÓN

Para ser biológicamente activas, las proteínas deben adoptar una estructura tridimensional única, que constituye su conformación nativa y funcional. La adopción de esta conformación ocurre durante y después de la síntesis de las mismas en los ribosomas. *In vivo*, algunos pasos del plegamiento son catalizados por proteínas como la peptidil *cis-trans* isomerasa o la isomerasa de disulfuros, y por las chaperoninas, que evitan la agregación irreversible en condiciones extremas. Sin embargo, *in vitro*, es posible llevar a cabo el plegamiento de proteínas pequeñas y globulares sin información o energía adicional, modificando solamente las condiciones del disolvente.

Siguiendo los cambios en actividad catalítica, dicroísmo circular (DC), la fluorescencia intrínseca o extrínseca, es posible seguir los cambios conformacionales durante la desnaturalización de una proteína al aumentar la temperatura, presión, concentración de solutos o bien modificando el pH. Cuando las condiciones fisicoquímicas del disolvente regresan a las fisiológicas se recupera la conformación nativa y la función de la proteína. Esto indica que en la conformación nativa, las interacciones entre la secuencia de aminoácidos y el ambiente que los rodea juegan un papel determinante.

Si tomamos en cuenta el número de conformaciones posibles que puede adoptar una cadena polipeptídica, este número es tan grande, que el tiempo en que una cadena polipeptídica adoptaría su estructura nativa explorando al azar todos estos confórmeros sería mayor a la edad del universo (1). A pesar de esto, las proteínas se pliegan en períodos de milisegundos a segundos. Esta observación se conoce como la paradoja de Levinthal, quien en 1968, sugirió la existencia de rutas preferenciales de plegamiento. Esto llevó a proponer la existencia de intermediarios cinéticamente accesibles, estados transitorios que de alguna manera "dirigieran" la ruta de plegamiento de las proteínas. Si estos estados existieran y fuera posible establecer sus estructuras y energías, se podrían determinar los factores que guían el plegamiento por rutas productivas. Los estudios sobre intermediarios en el plegamiento de las proteínas después de 1988, indican que existen conformaciones llamadas "estados desnaturalizados compactos". De estos estados los más conocidos son los "molten globules" o glóbulos fundidos.

ELGLÓBULO FUNDIDO YLA IMPORTANCIA DE UN INTERMEDIARIO EN LOS ESTUDIOS DE PLEGAMIENTO DE PROTEÍNAS

El glóbulo fundido es una conformación con mucha estructura secundaria, sin interacciones terciarias fijas. Esta conformación presenta los grupos aromáticos expuestos al solvente, un alto grado de compactación pero sin empaquetamiento rígido en el interior de la molécula y un incremento en las fluctuaciones de las cadenas laterales. Este tipo de intermediarios se acumulan en los primeros estadios del plegamiento de muchas proteínas, lo que sugiere la existencia de un ruta cinética general en este proceso.

Una consecuencia importante de la adquisición de estas conformaciones transitorias es que se limita el número de éstas que una cadena polipectídica puede tener, para conducir, de una búsqueda azarosa de conformaciones hacia estructuras energéticamente accesibles.

Los métodos que pueden utilizarse para caracterizar la conformación de estos intermediarios que se forman en la fase más rápida del plegamiento (10-2s) son pocos, aunque se tienen resultados de dicroísmo circular, espectroscopia de resonancia del espín del electrón (electron spin resonance spectroscopy) y resonancia magnética nuclear (NMR). El objetivo de esta revisión es resumir algunos resultados sobre el uso de una prueba más simple para evidenciar y caracterizar intermediarios conformacionales de plegamiento de proteínas como el glóbulo fundido.

EL USO DE LA FLUORESCENCIA EN EL ESTUDIO DE PLEGAMIENTO DE PROTEÍNAS

La medición de cambios en la intensidad de fluorescencia es una de las técnicas más utilizadas para proveer de información cinética y termodinámica en los estudios de transición de macromoléculas. Esto se debe principalmente a que la sensibilidad de la fluorescencia permite realizar estudios con concentraciones micromolares o menores de la molécula a estudiar.

Los fluoróforos usados en bioquímica pueden ser intrínsecos (como los residuos de triptofanos de la misma proteína) o extrínsecos (moléculas que al estar en contacto con la proteína presentan cambios en la intensidad de su fluorescencia). Los fluoróforos extrínsecos,

pueden unirse covalente o no covalentemente a la molécula de interés. La fluorescencia refleja las interacciones del fluoróforo con las moléculas circundantes, especialmente aquellas presentes durante el estado excitado. La fluorescencia es muy sensible y varios parámetros de ésta como la lmáx (longitud de onda de máxima emisión), la intensidad de fluorescencia y la vida media pueden ser afectados de diferentes maneras.

UNA PRUEBA EXTRÍNSECA PARA EL PLEGAMIENTO DE PROTEÍNAS

El fluoróforo extrínseco 1-anilino-8-naftaleno sulfonato (ANS) (Fig. 1) presenta una banda de absorción máxima entre los 270 y 360 nm. Al absorber luz, la molécula del ANS pasa de su estado basal al excitado. En este estado, el momento dipolar del ANS es mucho mayor que en el estado basal y por lo tanto la interacción del ANS con las moléculas que lo rodean es diferente de la que existía antes de la absorción. La reorientación y la transferencia de energía a las moléculas vecinas permite que el ANS vuelva poco a poco a su estado basal.

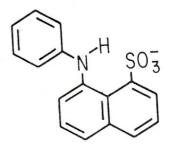


Figura 1. Estructura del 1-anilino-8-naftaleno sulfonato.

La fluorescencia del ANS presenta una dependencia de la polaridad del ambiente. Esta característica se ha demostrado para varios alcoholes y para mezclas de agua y etanol. El espectro de emisión de la fluorescencia del ANS se mueve hacia longitudes de onda menores, y la intensidad de la fluorescencia aumenta mientras los disolventes son cada vez menos polares, (por ejemplo, en la Fig. 2 se muestra como la intensidad de la fluorescencia aumenta mientras la polaridad del medio disminuye en el siguiente orden de disolventes: etilenglicol, metanol, n-propanol, n-butanol y n-octanol). En porcentajes diferentes de etanol mezclado con agua se observa el mismo comportamiento. (Fig. 2)

El ANS se empezó a relacionar con la estructura de las proteínas cuando se reportó que la fluorescencia mínima del ANS se incrementaba cuando este fluoróforo se unía a albúmina de suero de bovino. Posteriormente, se utilizó al ANS en la unión de apoproteínas. Lubert

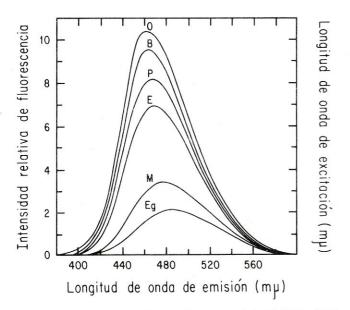


Figura 2. Espectro de emisión de fluorescencia de 10-5 M de ANS en diferentes alcoholes. La intensidad de fluorescencia aumenta y el máximo de emisión se mueve hacia el azul (de 480 a 450 nm) mientras la polaridad del disolvente disminuye en el siguiente orden: etilenglicol (Eg), metanol (M), etanol (E), n-propanol (P), n-butanol (B) y n-octanol (O) (Stryer, 1965).

Stryer, en 1965, publicó un extenso trabajo sobre la unión de ANS ala apohemoglobina y ala apomioglobina bajo la suposición de que este fluoróforo se unía a regiones hidrofóbicas y que las interacciones entre el hemo y la globina eran de naturaleza no polar (2). Si la hipótesis de que la región de unión del hemo es hidrofóbica es correcta, el ANS debería de formar complejos con ella.

De este trabajo se desprendieron varias observaciones como son: la estequiometría 1:1 de ANS-apoproteína, el desplazamiento del ANS por unión del grupo hemo y la identificación de las características de la fluorescencia del ANS en ambientes con diferentes polaridades. Pero sobre todo, se hicieron dos observaciones importantes: la primera es que la afinidad del ANS por la apoproteína disminuye notoriamente a pH 5, lo que significa que a pHs ácidos el sitio de unión a ANS se pierde, ya que la proteína se encuentra desnaturalizada y no existen regiones hidrofóbicas en la proteína que lo unan. La segunda es que se propone el uso de esta molécula para detectar cambios en la estructura terciaria y cuaternaria de las proteínas, que afecten la accesibilidad de regiones no polares.

El uso de ANS en estudios estructurales se extendió cuando se obtuvo el dímero del ANS, el 1,1bis(4anilino-5-naftaleno ácido disulfónico) o bis-ANS y se comprobó que las propiedades espectroscópicas de esta molécula son similares a las del compuesto original y que la afinidad por la albúmina de suero de bovino es dos órdenes de magnitud mayor que la del ANS (3). Se considera que el bis-ANS, al igual que el ANS es una molécula que se une a superficies hidrofóbicas de proteínas. El bis-ANS tiene una fluorescencia mínima en ambientes polares y su emisión aumenta considerablemente en ambientes no polares. Se usa de manera indistinta con el ANS, en estudios de cambios conformacionales en las proteínas.

Este último compuesto se ha usado para seguir la desnaturalización y renaturalización reversible de la chaperonina GroES. Por medio de anisotropía de fluorescencia, fluorescencia intrínseca, velocidad de sedimentación y unión de bis-ANS se observó que la desnaturalización con urea y la renaturalización de esta proteína es un proceso reversible y espontáneo que no requiere de otras proteínas para que GroES se pliegue a su estado nativo y recupere su actividad (4).

LAS PRIMERAS EVIDENCIAS SOBRE LA EXISTENCIA DEL GLÓBULO FUNDIDO

Las primeras evidencias sobre la existencia de un glóbulo fundido se obtuvieron desnaturalizando proteínas globulares con concentraciones crecientes de cloruro de guanidina (Gu-HCl). Los espectros de DC en la región del UV lejano, mostraban la existencia de una estructura semejante a la nativa, y por otro lado, en la región del UV cercano, una estructura semejante a la desnaturalizada. Esto sugería la existencia de intermediarios estables, parcialmente desnaturalizados, con un ambiente poco simétrico para los grupos aromáticos, pero con estructura secundaria comparable a la conformación nativa. Estudios posteriores cono:-lactalbúmina mostraron que estos intermediarios podían obtenerse usando concentraciones moderadas del desnaturalizante GdnHCl, a pH ácido moderado o aumentando la temperatura. La conclusión de estos trabajos, fue que lasα-lactalbúminas tanto de humano como de bovino, presentan formas intermedias a la nativa y a la desnaturalizada (5).

Se obtuvieron resultados iguales para otras proteínas como la anhidrasa carbónica y el citocromo C, entre otras. Se propuso que la estabilidad del estado intermediario compacto o glóbulo fundido, se debía a las interacciones hidrofóbicas de la molécula, lo que llevó a utilizar sondas conocidas capaces de unirse a regiones hidrofóbicas para que se unieran a las regiones hidrofóbicas de las proteínas en el estado de glóbulo fundido. Algunos de los estudios con diferentes proteí-

nas que identifican la existencia de un glóbulo fundido y las técnicas utilizadas se explican a continuación y se encuentran resumidas, junto con los resultados obtenidos, en la tabla I.

Experimentos realizados con la anhidrasa carbónica de eritrocitos de bovino, mostraron el incremento de la fluorescencia de la molécula del ANS cuando se unía a la cadena polipeptídica durante la renaturalización de la proteína. Se observó que el ANS se unía débilmente tanto a la proteína desnaturalizada como a la proteína nativa en un tiempo menor a 1 ms. Esto sugiere que el incremento en la intensidad de fluorescencia del ANS durante la renaturalización de la proteína, refleja la cinética de formación de los núcleos hidrofóbicos (6).

Las curvas de intensidad de fluorescencia del ANS contra tiempo muestran dos etapas (Fig.3). En la primera, la intensidad de fluorescencia aumenta rápida y simultáneamente al proceso de compactación (medido por DC), lo cual sugiere que se forman núcleos hidrofóbicos en el mismo tiempo. En la segunda, la intensidad de fluorescencia disminuye y esto aparentemente se debe a la desolvatación de los núcleos hidrofóbicos por formación de una estructura nativa rígida con interacciones terciarias estables. A partir de estos trabajos el aumento en la intensidad de fluorescencia del ANS se utilizó como una prueba que evidenciaba la existencia del glóbulo fundido.

Por otro lado, estudios con la anhidrasa carbónica y otras proteínas muestran que si se sigue la intensidad

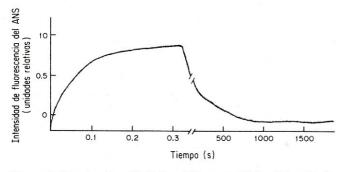


Figura 3. Renaturalización de la anhidrasa carbónica. Intensidad de fluorescencia del ANS contra tiempo durante el proceso de renaturalización de la anhidrasa carbónica. Se observan claramente dos etapas: en la primera, que representa los primeros segundos del proceso de renaturalización, se observa que la intensidad de fluorescencia aumenta rápidamente (y corresponde al proceso de compactación medido por DC (6)). Es en esta etapa cuando se han formado núcleos hidrofóbicos capaces de unir al ANS. La segunda etapa inicia donde se interrumpe la escala. A estos tiempos largos, la intensidad de fluorescencia del ANS disminuye, indicando que la proteína renaturalizada que se encuentra ahora en estado nativo no une ANS ya que sus núcleos hidrofóbicos no están expuestos.

de fluorescencia del ANS cuando se aumenta una condición desnaturalizante como el pH o la concentración de cloruro de guanidina, es muy claro que las conformaciones nativa y desnaturalizada no unen ANS (Fig.4). A valores pequeños o muy altos de desnaturalizante, la intensidad de fluorescencia del ANS es mínima. Sin embargo, a concentraciones intermedias de desnaturalizante, en las que se favorece la existencia o formación de intermediarios, la fluorescencia se incrementa significativamente. La existencia de este máximo de emisión en la fluorescencia del ANS al desnaturalizar algunas proteínas, indica que en esas condiciones se acumulan configuraciones transitorias con características semejantes a las de un glóbulo fundido (7).

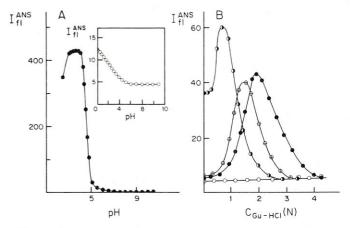


Figura 4. A. Cambio en la intensidad de fluorescencia a 480 nm de 250 mM de ANS libre (O) y en presencia de anhidrasa carbónica de bovino (•) al aumentar el pH. B. Cambio en la intensidad de fluorescencia de la anhidrasa carbónica de bovino (•), la anhidrasa carbónica de humano (⊗) y la β-lactamasa de Staphylococcus aureus (O) al aumentar la concentración de cloruro de guanidina (Gu-HCl).Obsérvese como a bajas y altas concentraciones de desnaturalizante (presencia de estado nativo y desnaturalizado respectivamente), los valores de intensidad de fluorescencia del ANS son pequeños. El pico de intensidad refleja la presencia de conformaciones intermediarias que unen favorablemente ANS (7).

ALGUNOS EJEMPLOS DEL USO DEL ANS EN ESTUDIOS DE PLEGAMIENTO DE PROTEÍNAS

Uno de los trabajos más completos que utiliza el ANS para caracterizar un estado intermediario y cambios conformacionales en las proteínas es el que utilizó a la β-lactamasa de *Staphylococcus aureus*, la α-lactalbúmina de humano, la β-lactoglobulina de bovino, la fosfoglicerato cinasa de levadura, así como la anhidrasa carbónica de bovino (CAB). En la renaturalización de estas cinco proteínas se observaron dos fases: la formación de un glóbulo fundido, seguida de la transición al estado nativo. La formación del

glóbulo fundido corresponde al máximo de fluorescencia y a la formación de un núcleo hidrofóbico (8). La velocidad del incremento en la fluorescencia del ANS es igual a la velocidad de compactación de estas proteínas medida por otras metodologías.

Estudios previos con β-lactamasa, caracterizan dos estados intermediarios con propiedades semejantes al glóbulo fundido bajo condiciones de pH diferente y alta concentración de sal. En este trabajo se siguió la desnaturalización de la β-lactamasa entre pH 2.5 y 11.5 en baja fuerza iónica. La desnaturalización se siguió por DC en el UV cercano y lejano, así como por fluorescencia de los triptofanos. Se encontró un primer intermediario (llamado "A") en condiciones de alta fuerza iónica y bajo pH. Este intermediario posee una estructura secundaria semejante a la conformación nativa pero una estructura terciaria "desordenada". Con alta fuerza iónica y pH alcalino, se encontró otro intermediario (llamado "B"). Este estado es compacto pero más expandido que el estado nativo. Aunque "A" se agrega con gran facilidad, "A" y "B" unen ANS fuertemente, mientras que los estados nativo y desnaturalizado no lo hacen. Esto sugiere que "A" y "B" presentan un incremento en su superficie hidrofóbica expuesta y accesible al solvente.

Los resultados obtenidos en combinación con DC y fluorescencia intrínseca permiten concluir que las interacciones hidrofóbicas tienen una gran importancia en la formación de estos estados intermediarios y el ambiente de los triptofanos es más hidrofóbico que en el estado nativo. "B" no muestra el pico a 250 nm característico, obtenido por DC en el UV cercano, que corresponde a la ionización de las tirosinas de la cadena, lo que indica que el ambiente de éstas es hidrofóbico. Este trabajo no solo reporta la existencia de un glóbulo fundido, o dos estados con características semejantes a éste, sino que señala la importancia de las interacciones hidrofóbicas en la formación de estos dos estados a partir del estado desnaturalizado, así como en la transformación al estado nativo (9).

En otra proteína, la lisozima, el uso de fluorescencia intrínseca, de un inhibidor competitivo unido a una sonda fluorescente (para monitorear el desarrollo de los cambios conformacionales del sitio activo), así como el uso del ANS y la comparación con resultados obtenidos por DC en el UV cercano y lejano, NMR e intercambio deuterio-hidrógeno permitieron monitorear estos cambios tanto del núcleo hidrofóbico como las interacciones entre los dos dominios.

Los resultados que se obtuvieron señalaron que ocurre un colapso hidrofóbico en las especies que se forman durante los primeros milisegundos de su renaturalización y que pueden observarse dos intermediarios. El primero, parcialmente colapsado, con estructura secundaria pero sin interacciones terciarias estables. El segundo, con una estructura con el dominio de hélice α estable pero el dominio β inestable y fluctuante. El empaquetamiento laxo de los estados de glóbulo fundido favoreció la unión de ANS y el intermediario de la fase temprana presentó mayor unión a ANS que el intermediario de la fase tardía (10). En otros trabajos se ha caracterizado la estabilidad conformacional del glóbulo fundido y el estado nativo en el citocromo Cde caballo y la dihidrofolato reductasa de E. coli. En ellos se detectó también el desarrollo de superficies no polares durante el plegamiento por incremento de la fluorescencia del ANS en los primeros 5 milisegundos, que indica que el primer intermediario detectable tiene superficies hidrofóbicas capaces de unir esta molécula (11).

La caracterización del glóbulo fundido de la glutaminil-tRNA sintetasa de *E. coli* por desnaturalización con urea muestra la existencia de este intermediario a bajas concentraciones de este agente. La fluorescencia en el estado nativo es igual al control de ANS en ausencia de proteína. A 2 M de urea, la fluorescencia del ANS aumenta hasta un máximo y va disminuyendo a 3.5 M de urea (12).

Una de las incertidumbres que presentaba el uso de ANS era que la interacción fluoróforo-proteína pudiera deberse no sólo a los grupos hidrofóbicos de la proteína, sino también a fuerzas electrostáticas (ya que el ANS tiene un grupo sulfonilo), o a que la molécula pudiera unirse a grupos hidrofóbicos individuales que no están involucrados en un grupo hidrofóbico o con estructura secundaria. Esto se aclaró permitiendo que el ANS se uniera a homopolipéptidos sin cadenas laterales hidrofóbicas como el poliácido glutámico y la polilisina. El primero mostró una conformación "al azar" a pH neutro y alcalino (condiciones en que tienen carga negativa). La polilisina (cargada positivamente a pH neutro y ácido) presenta esta misma estructura. El seguimiento de la fluorescencia del ANS al unirse a estos homopolipéptidos mostró que la fluorescencia no depende de la presencia de grupos cargados positiva o negativamente. La polilisina en conformación de hélice a no presenta gran afinidad por el ANS, pero en conformación de \(\beta \) plegada sí une ANS con mayor afinidad. Estos resultados mostraron que ni la conformación "al azar" ni la de hélice α presentan unión por ANS, mientras que la estructura deβ plegada, por ser más hidrofóbica, une ANS aún en ausencia de cadenas laterales hidrofóbicas (7).

CONCLUSIONES

El plegamiento de las proteínas a partir de una secuencia primaria hasta una estructura tridimensional con actividad catalítica, es uno de los problemas de mayor interés para la bioquímica. La inmensa cantidad de conformaciones que potencialmente podría adoptar una proteína y el tiempo real en que sucede el proceso de plegamiento elimina la posibilidad de que éste sea al azar. Se ha propuesto entonces, que este proceso de plegamiento esté dirigido y que existan intermediarios cinéticamente accesibles. Por lo tanto, la identificación

de los glóbulos fundidos durante la renaturalización de una proteína es muy importante.

Aunque no se conoce exactamente por qué el ANS fluoresce al unirse a las regiones hidrofóbicas, esta molécula tiene las características espectroscópicas y el comportamiento en diferentes solventes polares que lo hacen una prueba fluorogénica excelente de unión a este tipo de regiones. El aumento en la intensidad de fluorescencia al unirse a intermediarios parcialmente plegados, así como la fluorescencia mínima al unirse al estado nativo o desnaturalizado, permitieron concluir que la medición de los cambios de fluorescencia del ANS constituye una prueba sencilla para identificar intermediarios con las características de un glóbulo fundido. El ANS o el bis-ANS, también han servido para identificar cambios conformacionales en los que

TABLA I

PROTEINA	TECNICAS UTILIZADAS	RESULTADOS
Anhidrasa carbónica de	Estudios de renaturalización	Identificación de una estructura
eritrocitos de bovino (6).	seguidos por DC y fluorescencia del ANS.	con características semejantes a un glóbulo fundido.
Anhidrasa carbónica de bovino y de humano, β -lactamasa de S . qureus (7).	Estudios de desnaturalización por fluorescencia de ANS.	Identificación de un glóbulo fundido. Observación importante: las conformaciones nativa y desnaturalizada no une ANS.
β -lactamasa de S . aureus, α -lactalbúmina de humano, β -lactoglobulina de bovino, fosfoglicerato cinasa de levadura, anhidrasa carbónica de bovino (8).	Estudios de desnaturalización siguiendo la intensidad de fluorescencia del ANS. Seguimiento de la formación de estructura secundaria por DC.	La velocidad del incremento en la intensidad de fluorescencia del ANS corresponde a la compactación de las proteínas medida por DC.
β-lactamasa (9).	Desnaturalización por variación de pH y fuerza iónica. Seguimiento de señales de DC en UV cercano y lejano, fluoresencia intrínseca y unión de ANS.	Identificación de dos estados intermediarios "A" y "B" que unen ANS. "A" presenta estructura secundaria semejante a la nativa y "B" es un intermediario más compacto.
Lisozima (10).	Estudios de desnaturalización siguiendo fluorescencia intrínseca, unión de inhibidor competitivo unido a una sonda fluorescente, DC en UV cercano y lejano, NMR y uso de ANS.	Durante los primeros milisegundos ocurre un colapso hidrofóbico, existen dos intermediarios, uno de fase temprana que tiene mayor afinidad por ANS que el de la fase tardía.
Glutaminil-tRNA sintetasa de R.coli (11).	Desnaturalización con urea siguiendo la intensidad de fluorescencia del ANS.	A 2M de urea se observa un máximo de emisión de fluorescencia de ANS. No así en la conformación nativa, que tiene el mismo valor que el ANS control en ausencia de proteína.
Proteina simportadora de D- galactosa -H' de <i>E.coli</i> (13).	Seguimiento de cambios en la fluorescencia de ANS para seguir la unión de azúcares y antibióticos en la proteína simportadora.	Los azúcares transportados aumentan la fluorescencia del ANS. Aquellos que se unen a la proteína pero no son transportados solo provocan un pequeño aumento, al igual que inhibidores que se unen pero no son transportados. Aquellos azúcares que no se unen no provocan ningún cambio.
Proteina de unión a retinol (14).	Seguimiento de señales de DC en el UV cercano y lejano, fluorescencia intrínseca, NMR, calorimetría, viscosidad y unión de ANS.	A pH ácido, la apoproteína presenta características semejantes a la conformación de glóbulo fundido seguido por estas técnicas.
Hemaglutinina del virus de la influenza (15).	Monitoreo del cambio conformacional de la hemaglutinina usando bis-ANS.	La hemaglutinina sufre un cambio conformacional a bajo pH y deja expuestos sitios hidrofóbicos que no son accesibles a pH neutro. Este cambio provoca un aumento en la intensidad de fluorescencia del bis-ANS.
Homopolipéptidos (7).	Unión de ANS a polilisina y poliácido glutámico a pH neutro, alcalino y ácido.	El ANS no se une a la conformación "al azar" ni a las α -hélices. El ANS une conformaciones más hidrofóbicas como la estructura de β -plegada.

existe un estado de glóbulo fundido con una función biológica. Un ejemplo de esto es la proteína simportadora de D-galactosa-H+ de E. coli. El azúcar provoca un cambio conformacional en la proteína simportadora en el momento de ser transportada; el aumento en la fluorescencia del ANS observado hace pensar que durante el transporte, la proteína adquiere la conformación de glóbulo fundido (13). Otros ejemplos son la liberación de retinol por la holo-RBP (proteína de unión a retinol)(14), que involucra un estado parecido al glóbulo fundido en la proteína cuando libera esta molécula, y la unión del virus de la influenza a los receptores de superficie de las células hospederas por mediación de la hemaglutinina, la cual presenta un estado con características semejantes al glóbulo fundido al mediar esta interacción (15). El uso del ANS ha demostrado que el glóbulo fundido no es sólo un intermediario que aparece in vitro en los estudios de desnaturalización y renaturalización de diferentes proteínas, sino que probablemente, también se trata de un intermediario funcional importante en algunos procesos biológicos.

AGRADECIMIENTOS

La autora desea agradecer al Dr. Ruy Pérez-Montfort la asesoría y revisión del presente artículo. Al Dr. Daniel Alejandro Fernández-Velasco y al M.en I.B.B. Edgar Vázquez Contreras por la discusión en seminarios y la revisión de este trabajo.

REFERENCIAS

- Creighton TE (1993) Proteins. Second Ed W H Freeman & Co New York, pp 287-323.
- 2. Stryer L (1965) The interaction of a naphtalene dye with apomyoglobin and apohemoglobin: a fluorescent probe of non-polar binding sites, J Mol Biol 13:482-495.
- 3. Rosen C-G y Weber G (1969) Dimer formation from 1-anilino-8-naftalenosulfonate catalyzed by bovine serum albumin. A new fluorescent molecule with exceptional binding properties, Biochemistry8 (10):3915-3920.

- 4. Seale JW, Gorovits BM, Ybarra Jy Horowitz PM (1996) Reversible oligomerization and denaturation of the chaperonin GroES, Biochemistry 35:4079-4083.
- Dolgikh D A, Gilmanshin R I, Braznikov E V, Bychkova G V, Semisotnov S, Venyaminov Yu y Ptitsyn O B (1981)α-Lactalbumin: Compact state with fluctuating tertiary structure? FEBS LETTERS 136 (2): 311-315.
- Semisotnov G V,Rodionova N A,Kutyshenko V P, Ebert B, Blanck J y Ptitsyn O B (1987) Sequential mechanism of refolding of carbonic anhydrase B, FEBS LETTERS 224 (1):9-13.
- Semisotnov G V,Rodionova N A, Razgulyaev O I, Uversky VN, Gripas A F, y Gilmanshin R I (1991) Study of the "molten globule" intermediate state in protein folding by a hydrophobic fluorescent probe, Biopolymers 31: 119-128
- 8. Ptitsyn O B, Pain R H, Semisotnov G V, Zerovnik E y Razgulyaev OI (1990) Evidence for a molten globule state as a general intermediate in protein folding, FEBS LETTERS 262(1):20-24.
- Goto Y y Fink A L (1989)Conformational states of βlactamase:molten-globule states at acidic and alkaline pH with high salt, Biochemistry 28: 945-952.
- Itzhaki L S, Evans P A, Dobson C M, y Randford S E (1994) Tertiary interactions in the folding pathway of hen lysozyme: kinetic studies using fluorescent probes, Biochemistry 33: 5212-5220.
- Jones B E, Jennings P A, Pierre R A y Matthews R (1994)
 Development of nonpolar surfaces in the folding of Escherichia coli dihydrofolate reductase detected by 1anilinonaftalene-8-sulfonate binding, Biochemistry 33:15-250-15258.
- 12. Das BK, Bhattacharyya T, y Roy S. (1995) Characterization of a urea induced molten globule intermediate state of glutaminyl-tRNA synthetase from *Escherichia coli*, Biochemistry 34: 5242-5247.
- Walmsley AR, Martin GEM y Henderson PJF (1994) 8anilino-1-naphtalenesulfonate is a fluorescent probe of conformational changes in the D-galactose-H+ symport protein of Escherichia coli, J Biol Chem 269 (25): 17009-17019.
- 14. Bychkova V E, Berni R, Rossi G L, Kutyshenko V y Ptitsyn O B (1992) Retinol-binding protein is in the molten globule state at low pH, Biochemistry 31:7566-7571.
- 15. Korte Ty Herrmann A (1994) pH-dependent binding of the fluorophore bis-ANS to influenza virus reflects the conformational change of hemagglutinin, Eur Biophys J 23:105-113.

EL ESTRÉS OXIDATIVO EN LA PATOGENIA DE LA ATEROSCLEROSIS

Ela M Céspedes Miranda, Reinaldo E Arencibia Dávila, Félix Broche Valle y José C García Piñeiro. Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón", Centro de Investigaciones Biomédicas, Departamento de Bioquímica. Calle 146 No 3102 Playa. CP 11600 Ciudad de la Habana, Cuba.

RESUMEN

La aterosclerosis es el proceso cuya manifestación clínica más frecuente se expresa en los accidentes cardio y cerebrovasculares que constituyen las primeras causas de morbimortalidad mundial.

La génesis de estos procesos se estudia desde el siglo pasado y en estos momentos se esclarece la participación de las especies reactivas del oxígeno y de factores regulatorios en la aparición y desarrollo de la placa de ateroma.

PALABRAS CLAVE: aterosclerosis, especies reactivas del oxígeno, factores regulatorios.

ABSTRACT

Atherosclerosis is a pathological process whose clinical pattern is often expressed as cardiovascular or cerebrovascular diseases which are the most frequent causes of mortality in the world.

Its pathogenesis has been extensively studied since the last century and, nowadays, physicians and researchers are working to clarify the particular role of oxygen reactive species as well as a wide variety of regulatory factors on the molecular mechanisms that lead to origin, progression and complication of the atheroma plaque.

INTRODUCCIÓN

El término ATEROSCLEROSIS es utilizado para referir a aquellosprocesos donde se forman placas en la íntima de las paredes delas arterias de mediano y gran calibre (1). Este proceso se inicia desde la infancia, progresando de forma variable con el transcurso de la vida, en dependencia de factores genéticos yambientales. Su presencia generalmente se desconoce hasta que ocurre el primer ataque, muchas veces fatal.

La Organización Mundial de la Salud define a la aterosclerosis como la combinación de los cambios que ocurren en la íntima, con acumulación de lípidos, en particular colesterol, y productos sanguíneos, tejido

fibroso y depósitos de calcio, asociados con cambios en la media (1).

El colesterol que se acumula procede primariamente de las lipoproteínas plasmáticas; entre ellas, las lipoproteínas debaja densidad (LDL) que parecen ser las de mayor importanciacomo factor de riesgo para las enfermedades cardiocoronarias.

Diversas han sido las hipótesis, apoyadas por hallazgos experimentales, que tratan de explicar el origen y desarrollode estos procesos. El papel de las especies reactivas del oxígeno permite conformar la hipótesis oxidativa de la ateros cleros is (2,3).

ATEROSCLEROSIS Y ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO (ERO). OXIDACIÓN EINFLAMACIÓN

Las especies reactivas del oxígeno: radical superóxido, peróxidode hidrógeno, radical hidroxilo, entre otras, se generan durante la reducción biológica normal del oxígeno. Al ser especies muy reactivas pueden interactuar con biomoléculas, siendo por tanto capaces de provocar alteraciones estructurales y funcionales de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, así como daño a las membranas celulares por peroxidación de ácidos grasos insaturados.

El organismo dispone de mecanismos protectores contra la toxicidad del oxígeno, entre los que se encuentran enzimas como la superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa, así como las vitaminas E, C y A, entre otras.

La peroxidación lipídica inducida por las especies reactivas del oxígeno ha sido propuesta como un factor etiológico en la aterosclerosis. Existen evidencias indirectas de peroxidación lipídica en enfermedades oclusivas aórticas y aneurismales, en las que se ha encontrado un aumento en la concentración de hierro libre, una disminución en la actividad de enzimas que actúan interfiriendo con la actividad de los radicales libres y disminución en la concentración de ácido ascórbico (4).

Piotrowski y colaboradores observan, además, elevadas concentracione de productos de la peroxidación lipídica en plasma de pacientes con enfermedad arterial oclusiva y otras complicaciones vasculares (4).

Las LDL transportan el colesterol circulante hacia las células donde se metabolizan a través de la vía del receptor apo B/E. Estas biomoléculas, en particular las LDL más pequeñas, son sensibles a la peroxidación lipídica, posiblemente debido a su elevado contenido en ácidos grasos poliinsaturados, principales sustratos para las reacciones de oxidación. El ácido linoleico constituye casi el 90% y es, por tanto, el principal sustrato para la peroxidación.

La oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados, componentes importantes de la placa aterosclerótica, puede resultar en la formación de peróxidos lipídicos los cuales pueden dañar componentes de la pared arterial como proteínas y mucopolisacáridos, o resultar en la generación de peróxidos adicionales (5,6).

La apoproteína B100 puede ser también sustrato de cambios oxidativos que modifican su capacidad de interacción con los receptores.

Esta hipótesis oxidativa propone, por tanto, que la modificación de las LDL por especies reactivas del oxígeno con la participación de las células endoteliales, células musculares lisas y/o células inflamatorias conduce a la formación de las LDL oxidadas (LDL-ox) y constitu ye el evento que probablemente inicia y propaga la aterosclerosis, al ser estas LDL-ox reconocidas más rápidamente por receptores específicos presentes en la superficie de los macrófagos y dar origen a las células espumosas, que se acumulan y forman la estría grasa (7).

Es necesario entonces considerar que los radicales libres generados por la actividad celular pueden provocar la oxidación de las LDL, conduciendo a la pérdida de antioxidantes en estas lipoproteínas, oxidación de ácidos grasos, formación de lisofosfolípidos y modificación de residuos de lisina en la apolipoproteína B100.

Las LDL-ox se caracterizan por alteraciones en sus propiedades físico-químicas y se piensa que intervienen en la aterogénesis por varios mecanismos (8,9,10).

- 1. Desviación metabólica de las LDL-ox hacia la vía del receptor para las LDL modificadas oxidativamente presente en la superficie de los macrofágos.
- 2. Adherencia y migración de monocitos y linfocitos T en el espacio subendotelial por medio de un factor quimiotáctico y citocinas cuya liberación es estimulada por las LDL-ox.

Las LDLox estimulan a las células endoteliales y células musculares lisas para secretar una proteína-1 quimiotáctica de monocitos, un factor estimulante de colonias (macrófagos-granulocitos) y el factor-1 estimulante de colonias (monocitos). Estos dos últimos factores de crecimiento están involucrados en la proliferación de monocitos y su diferenciación a macrófagos.

- 3. Inhibición de la movilidad de macrófagos residentes, por tanto, se previene su capacidad de penetrar en la íntima y regresar a la circulación.
- 4. Citotoxicidad, que conduce a un descenso en la integridad endotelial.

Esta LDL-ox está involucrada entonces en la proliferación de las células musculares lisas, en el daño del endotelio vascular y en la inducción de la expresión de glicoproteínas de adhesión como la molécula de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1), mecanismo mediante el cual pudiera mediar la respuesta inflamatoria temprana de los leucocitos mononucleares con la vasculatura (8,11).

Las señales oxidativas serían importantes además en la regulación de la expresión de moléculas de adhesión sensibles a la oxidación en las células endoteliales, siendo el factor nuclear kappa B, un factor regulatorio transcripcional que puede ser activado en varios tipos celulares por agentes inflamatorios y por radicales de oxígeno. Este factor determinaría la expresión de VCAM-1 sobre las células endoteliales, lo que promueve la adhesión de leucocitos mononucleares al endotelio (8,11).

La disfunción del endotelio puede manifestarse por un incremento en el atrapamiento de lipoproteínas en las arterias y la aparición de glicoproteínas adhesivas específicas sobre la superficie de las células endoteliales que pueden ser atacadas por monocitos y linfocitos T y migrar entre dichas células bajo la influencia de moléculas regulatorias del crecimiento y quimioatrayentes liberados por el endotelio alterado, sus leucocitos adherentes y quizás por las células musculares lisas subyacentes.

Los macrófagos expuestos a las LDL-ox pueden liberar Interleucina 1 (IL-1) o Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNFalfa) que podrían inducir la expresión del gen del Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas A (PDGF-A) en las células musculares lisas y favorecer la migración o replicación de estas células (10); o sea, el hecho de que los macrófagos se activen, repercute en la expresión génica de muchas de las moléculas regulatorias del crecimiento y citocinas.

La oxidación de las LDL también pudiera estar mediada por moléculas de bajo peso molecular como el óxido nítrico (NO), especialmente en presencia del radical superóxido por formación de peroxinitrito, quien puede en primera instancia oxidar al antioxidante natural presente en las LDL (elatocoferol). Este NO puede promover la formación de un núcleo necrótico y la inestabilidad de la placa. Sin embargo, el NO puede inhibir la adhesión de monocitos, la liberación de la proteína 1 quimiotáctica de monocitos por las células endoteliales y la migración y proliferación de células musculares lisas, además de ser un potente vasodilatador endógeno (12).

La formación de las LDL oxidadas in vitro puede ser inducida por contaminantes del aire, extractos del cigarro o con un sistema enzimático en el que intervienen una lipoxigenasa y la fosfolipasa A2. En las LDL tratadas con radiaciones ultravioletas se observa severa peroxidación lipídica demostrada por la disminución en los ácidos grasos poliinsaturados, carotenos y vitamina E(9).

Las LDL también pueden ser oxidadas al incubarlas con células en cultivo (células endoteliales, células musculares lisas, macrófagos) o en sistemas acelulares (amortiguador fosfatosalino) suplementados con iones metálicos de transición como el cobre, lo que conduce a una oxidación casi completa de los ácidos grasos poliinsaturados en menos de dos horas.

La oxidación estimulada por cobre puede ser dividida en tres fases consecutivas (13):

Fase de retardo, en la que los antioxidantes ejercen su acción protectora y son consumidos.

Fase de propagación en la que ocurre la oxidación rápida de los ácidos grasos poliinsaturados a hidroperóxidos lipídicos.

Fase de descomposición, en la que los peróxidos lipídicos se descomponen en una variedad de productos, como el malonaldehído, que reaccionan en o cerca del sitio de origen con residuos de aminoácidos de las apoproteínas B y por tanto generan epítopos los cuales son ligandos para el receptor de los macrófagos. Anticuerpos monoclonales y policlonales desarrollados contra el malonaldehído reconocen a las LDL-ox.

Sesugiere entonces que las LDL-ox son aterogénicas, se encuentran regularmente en el plasma humano, preferencialmente en sujetos con enfermedad cardíaca coronaria y la prevención de la oxidación con antioxidantes podría disminuir el riesgo de enfermedad cardiovas cular ateros clerótica.

PAPEL DE LOS ANTIOXIDANTES EN LA ATEROSCLEROSIS

Se han realizado numerosos estudios que evidencian el papel de compuestos con propiedades antioxidantes en la aterosclerosis, lo que ha repercutido en las alternativas de intervención y evolución del proceso. Diversos estudios se han realizado utilizando las vitaminas A, C y E (14).

Se reporta que lesiones similares a las ateroscleróticas se observan en roedores y primates con deficiencia crónica de las vitaminas Co E, y que la ateromatosis experimental en conejos alimentados con triglicéridos puede ser prevenida por la administración de vitamina E. Estudios en conejos con una dieta hipercolesterolémica, demostraron que los animales suplementados con vitamina Etenían niveles sanguíneos y tisulares más bajos de malondialdehído, indicador de peroxidación lipídica (14).

En el hombre se ha estudiado la relación entre el efecto de antioxidantes y la aparición de alteraciones cardiovasculares. En pacientes con enfermedad cardíaca isquémica se han encontrado niveles elevados de ácido tiobarbitúrico y estos niveles pueden ser disminuidos por las vitaminas antioxidantes (14).

La producción por las células espumosas de especies reactivas de oxígeno y las modificaciones en las LDL podrían ser inhibidas por la actividad de las enzimas constituyentes del sistema de defensa antioxidante del que forman parte las superóxido dismutasas, catalasa, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa (6), así como por el alfa tocoferol, la ubiquinona y el ascorbato (14).

Compuestos sintéticos antioxidantes como la Nacetilcisteína y los ditiocarbamatos han sido utilizados para la inhibición de la activación del factor de transcripción NF-kappa B, interfiriendo con el componente inflamatorio de la aterogénesis al inhibir la expresión de diferentes genes en las células endoteliales (8). El troglitazone, un nuevo antidiabético oral, es capaz de reducir, invitro, laperoxidación delípidos y lipoproteínas (15).

Los estudios realizados hasta ahora permiten aproximaciones certeras a la fisiopatología de la aterosclerosis, en la que los procesos oxidativos mediados por los radicales libres y los procesos inflamatorios juegan un papel tan importante que constituyen el fundamento de los nuevos regímenes terapéuticos y diagnósticos. Áreas importantes en la prevención y tratamiento de la aterosclerosis, como la modificación de estos procesos por drogas tales como antagonistas del calcio e inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, antagonistas de citocinas y factores de crecimiento, y drogas que influyen sobre los niveles plasmáticos de lipoproteína (a), además de las drogas que disminuyen los lípidos sanguíneos, continúan siendo evaluadas.

REFERENCIAS

- Muñoz MT, Argente J (1990) Colesterol y aterosclerosis en la infancia. An Esp Pediatr 33:203-212.
- 2. Luc G, Fruchart JC (1991) Oxidation of lipoproteins and atherosclerosis. Am J Clin Nutr 53:206S-209S.
- Stocker R (1994) Lipoprotein oxidation: mechaistic aspects, methodological approaches and clinical relevance. Current Opinion in Lipidology 5:422-433.

4. Piotrowski JJ, Hunter GC, Eskelson CD, Dubick MA, Bernhard VM (1990) Evidence for lipid peroxidation in atherosclerosis. Life Sciences 46:715-721.

- Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jurgens G (1992) The Role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modifications of LDL. Free Rad Biol Med 13: 341-390.
- Frei B (1995) Cardiovascular Disease and nutrientantioxidants: Role of low density lipoprotein oxidation. Critical Reviews in Food Science and Nutrition (1&2):83-98.
- Kight JA (1995) Diseases related to Oxygen-derived Free Radicals. Ann Clin & Laboratory Science 25:111-121.

- 8. Offermann MK, Medford RM (1994) Antioxidants and atherosclerosis. A molecular perspective. Heart Disease and Stroke 3:52-57.
- Dousset N, Negre-Salvayre A, Lopez M, Salvayre R, Douste Blazy L (1990) Ultraviolet-treated lipoproteins as a model system for the study of the biological effects of lipid peroxides on cultured cell. I. Chemical modifications of ul-traviolet-treated low density lipoproteins. Biochem Bio-Biophys Acta 1045:219-223.
- 10. Ross R (1993) The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. Nature 362:801-809.
- 11. LinJH, Zhu Y, Liao HL, Kobari Y, Groszek L, Stemerman MB (1996) Induction of vascular cell adhesion molecule-1 by low-density lipoprotein. Atherosclerosis 127:185-194
- 12. Bult H (1996) Nitric oxide and atherosclerosis: possible implications for therapy. Mol Med Today 2(12):510-518.
- Esterbauer H, Dieber-Rotheneder M, Waeg G, Puhl H, Tatzber F (1990) Endogenous antioxidants and lipoprotein oxidation. Biochem Soc Trans Cardiovasc Dysfunction 18:1059-1061
- Fred K (1990) Lipids, lipoproteins and antioxidants in Cardiovascular Dysfunction. Biochem Soc Transact 18:1041-1045.
- Cominacini L, Garbin U, Pastorino AM, Campagnola M. Fratta-Pasini A, Davoli A, Rigoni A, Lo Cascio V (1997) Effects of troglitazone on in vitro oxidation of LDL and HDL induced by copper ions and endothelial cells. Diabetologia 40:165-172.



DIVISIÓN LABORATORIOS.

LEOFILIZADORAS

CENTRÍFUGAS REFRIGERADAS Y NO REFRIGERADAS.

FUENTES DE PODER.

TRANSILUMINADORES.

INCUBADORAS REFRIGERADAS Y BACTERIOLÓGICAS.

BALANZAS ANALÍTICAS Y DE USO GENERAL.

BAÑOS DE TEMPERATURA CONTROLADA Y DE AGITACIÓN.

ESPECTROFOTÓMETROS UVIVIS.

DIVISIÓN FISIOLOGÍA. FARMACOLOGÍA.

SISTEMAS DE ADQUISICIÓN DE DATOS. MARCA BIOPAC SYSTEMS, INC.

MEDIDORES DE ANALGESIA ESTEREOTÁXICO.

PLESTIMÓMETROS.

CAJAS DE ACTIVIDAD.

VENTILADORES PARA ROEDORES Y PERROS.

MICROMANIPULADORES.

ROTA-RODS MARCA UGO BASILE

LUIS GONZALEZ OBREGON # 16 CTO. CRONISTAS, CD. SATÉLITE. 53100 NAUCALPAN, EDO. DE MÉXICO. TEL: 562-72-58 FAX: 393-30.19

YA PUEDES COMUNICARTE CON EL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA A TRAVÉS DE INTERNET.

¡EL BEB YA TIENE CORREO ELECTRÓNICO! beb@laguna.fmedic.unam.mx

AHORA, ENVIARNOS TUS COMENTARIOS Y SUGERENCIAS SERÁ MÁS FÁCIL.
TAMBIÉN A NOSOTROS NOS SERÁ MÁS FÁCIL COMUNICARNOS CONTIGO.

En breve tendremos una hoja-casa donde podrás consultar los artículos recientes, los pasados, los índices de todos los números del BEB e incluso los índices de los próximos números.20

ENVÍANOS TUS MENSAJES, LOS ESTAMOS ESPERANDO

APROXIMACIÓN A LOS FRACTALES Y LA TEORÍA DEL CAOS. LA FISIOLOGÍA HUMANA Y LA EVOLUCIÓN CELULAR

Jorge Joel Reyes Méndez. Departamento de Atención a la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. Calzada del Hueso 1100, Coyoacán 04960, D.F. México.

RESUMEN

Mucho se ha escrito en los años recientes sobre la teoría del caos con sus provocativas propuestas así como de los fractales, inventados por Benoit Mandelbrot en los años setenta, aunque tanto la teoría del caos, como la moderna teoría de fractales, en realidad tienen su origen en el siglo anterior, en el transcurso de 1870, dentro del marco del descubrimiento de funciones continuas sin derivadas. Los trabajos actuales se nutren de aquellos realizados, esencialmente, desde esa época hasta las primeras décadas del presente siglo. En este texto se propone un enfoque diferente a dos temas obligados en el estudio de las ciencias biológicas, como la fisiología y la evolución celular, planteando posibles respuestas a interrogantes no aclaradas aún, y abriendo nuevas preguntas en espera a ser respondidas.

PALABRAS CLAVE: Determinismo, sistemas dinámicos, dimensión fractal, caos, fractales.

ABSTRACT

A lot has been written in recent years about the chaos theory and its provocative proposals as well as the fractals, invented by Benoit Mandelbrot in the seventies, although both theories actually had their start in the previous century, in the course of 1870, within the framework of the discovery of continuous underivated functions. Present-day research is feeding on papers written, since that year until the first two decades of the 20th century. The purpose of the present work is to propose a different point of view about two essential subjects in the biological sciences, like physiology and cellular evolution; laying out possible answers for questions that still have unsatisfactory explanation, and posing new questions in the way to be responded.

KEY WORDS: Determinism, dynamic systems, fractal dimension, chaos, fractals.

INTRODUCCIÓN

Desde pequeños nos sumimos, con la ayuda de nuestra formación intelectual, en el mundo determinista, inmutable y lineal que nos legaron Euclides y Newton. En efecto, desde la época de los filósofos griegos, nuestra civilización occidental ha operado con la idea de que las líneas, círculos, cuadrados y otros objetos de la geometría clásica son, de alguna forma, más reales que la naturaleza misma; sin embargo, ésta tiene sólo unos pocos ejemplos puros de estas formas. Platón postuló un mundo de formas ideales, donde dichas formas perfectas residían inmaculadamente. El mundo de la experiencia humana era una imagen obscura e imperfecta de este mundo ideal. Así, incapaces de vivir en este mundo imperfecto, la gente asocia al mundo una visión de perfección imaginaria. Los edificios deben ser cuadrados, las repisas derechas, y las ruedas redondas.

Mientras que esto no necesariamente quiere decir que debemos construir edificios con forma fractal, sí significa que la geometría fractal puede proporcionar una mejor descripción de la naturaleza, de la estructura de las nubes, montañas, ríos, ramas, cascadas, campos de girasoles, y hasta del clima. También nos puede decir algo sobre el funcionamiento del sistema cardiovascular, los secretos de la bioquímica, o la forma de pensar de la gente. Lo que tiene una gran importancia no es el éxito de la teoría, sino la reorientación del pensamiento fundamental. Este punto de vista emergente de la naturaleza es más humilde, diríase menos arrogante. La maravilla más profunda es la naturaleza misma, no nuestros intentos por modelarla y entenderla.

¿No acaso todos tuvimos que digerir la geometría y la mecánica clásicas? Aprendimos a calcular áreas

y volúmenes de cuerpos cuya complejidad difícilmente sobrepasa la de un ente hiperbólico. Comprendimos que las fuerzas físicas que gobiernan las leyes naturales se desenvuelven impasibles ante el paso del tiempo, pues sirven tanto para explicar el presente y el futuro, como para reconstruir el pasado.

Cierto es que con estos conceptos hemos llegado a un grado de elaboración asombroso. Podemos predecir el comportamiento de un péndulo, construir máquinas y edificios y hasta emprender viajes al espacio exterior. La idea reinante en nuestro ánimo es que el universo, cuya enormidad se manifiesta al verlo tanto en pequeña como en gran escala, es una maquinaria. Por lo tanto, con una visión laplaciana, conociendo bien las variables involucradas en un proceso, se podría hacer una certera predicción. La llave para una predicción exacta sería, pues, una exacta medición.

Y he aquí el tropiezo. Hasta hace relativamente poco tiempo las discusiones acerca de la forma y medida de objetos naturales se han basado preponderantemente en aproximaciones simplificadoras de la geometría real de las cosas, reemplazando el reconocidamente complejo mundo real por sencillos ideales euclideanos. Un biólogo crea un modelo geométrico de una conífera aproximando su forma a la de un cono apoyado sobre un cilindro. Un cartógrafo emula una montaña con un triángulo o, a lo sumo, con varios triángulos. Pero no es menester sino mirar a nuestro alrededor para ver que nuestro mundo es muy complicado y que las únicas formas rectas y cuadradas en él, son las creadas por el ser humano.

Es precisamente en el momento en que se reconoce lo anterior y se acepta que muchos objetos naturales, en su esencia, son irregulares y obedecen a patrones distintos a los tradicionalmente manejados, cuando se está listo para penetrar al reino de la geometría fractal.

En los esquemas euclidianos las líneas son suaves; en los fractales las líneas son crispadas (no diferenciables), y a menudo exhiben un tipo especial de estructura autosimilar (similar a sí misma) que se repite a diferentes escalas. Como ejemplificara Benoit Mandelbrot, padre de la teoría de los fractales, si vemos una coliflor, podemos decir que parece una media esfera. Si la miramos con mayor atención, vemos que es irregular y que la media esfera en realidad está compuesta por varias

pequeñas esferas, cada una al final de un tallo. Si separamos un tallo, vemos que al final de éste, hay un fragmento de coliflor que bien podría ser una pequeña legumbre. Si seguimos cortando tallos cada vez más chicos, vemos que obtenemos una fracción que repite la estructura del cuerpo del cual proviene, y así sucesivamente. Observamos que tiene una estructura autosimilar.

Al tratar de expresar matemáticamente el patrón de desarrollo que siguió la coliflor o el de una hoja de helecho o el de pigmentación de un caracol marino, nos veríamos en el aprieto de tener que emplear infinidad de ecuaciones particulares muy elaboradas. Pero muchos fenómenos complejos no necesariamente requieren complicados modelos para explicarse. Aun cuando ocasionalmente la naturaleza nos sorprenda mediante comportamientos extraños, algunos sistemas aparentemente embrollados se pueden modelar con un grupo relativamente pequeño de construcciones matemáticas que no son complicadas.

Mandelbrot acuñó en 1975 el nombre de "fractales" para sus construcciones, pero sintió que el tema, como un buen vino, requería algo de añejamiento antes de embotellarse. Y como un buen vino de fina cepa, fue adquiriendo cuerpo, consistencia y carácter.

Sentó la base formal de la moderna "teoría del caos" con la sencilla ecuación $x = x^2 + c$, en donde x es un parámetro y c una constante que se añade en cada ciclo de cálculo, como dicen los matemáticos, en cada iteración.

Esta sencilla ecuación modela satisfactoriamente el comportamiento de sistemas tan caóticos y distantes entre sí como el irregular electrocardiograma de un ataque cardiaco, las manchas que forman los gases en la atmósfera de Júpiter, el clima de nuestro planeta y hasta el patético sube y baja de las acciones en los mercados bursátiles internacionales.

¿QUÉ SON LOS FRACTALES Y EL CAOS?

Los fractales y el caos son temas asociados con una disciplina matemática llamada dinámica de sistemas no lineales, que son sistemas que no responden a los estímulos en proporción directa. Llamados también sistemas dinámicos, son de interés para las matemáticas y para la física matemática. Sin embargo, a la luz de los nuevos estudios en fisiología, hemos empezado a percatarnos de las posibilidades

de dinámica caótica y arquitecturas fractales en los seres vivos.

El caos es típico de la mayoría de los sistemas no lineales; el progreso en cuanto a su entendimiento, es una de las características de la física de los fenómenos no lineales. Esta teoría de los sistemas dinámicos no lineales ayuda a comprender el fenómeno de las epidemias, la cinética de ciertas reacciones químicas y los cambios climáticos.

El caos resulta no ser tan caótico. Existen métodos matemáticos para abarcar su complejidad. Desde luego falta un largo trecho por recorrer para entender cómo las moléculas, las células de los seres vivos, los gases, etcétera, siguen y llevan a cabo los procesos contenidos en la ecuación de Mandelbrot y así culminan su desarrollo. Pero conceptualmente los fractales son un instrumento muy bello y poderoso que nos hace comprender que en el universo es el caos, y no las leyes deterministas e inmutables, la ley fundamental.

EL CAOS Y LA NATURALEZA FRACTAL DEL MUNDO

Para estudiar al caos, se ha utilizado la teoría de los sistemas dinámicos, especialmente útil para estudiar el comportamiento dinámico de los fenómenos que evolucionan en el tiempo, y por lo tanto son dependientes de éste. Los fenómenos que evolucionan en el tiempo, se caracterizan por la existencia de sucesos que se repiten una y otra vez, a intervalos de tiempo regulares (periodos). Un proceso periódico, será aquel integrado por la suma de varios periodos u oscilaciones, y al mecanismo que da origen a cualquier sistema periódico u oscilatorio se le llama oscilador.

Un sistema dinámico consta de tres componentes:

- a) La noción de estado, que es la información esencial sobre un sistema;
- b) La dinámica que está dada por la regla, ley o en su caso algoritmo, que describe cómo se lleva a cabo la evolución del sistema en el tiempo, y;
- c) El espacio de fases o espacio de configuraciones, que traslada la evolución del sistema a una construcción geométrica abstracta, cuyas coordenadas varían con las características de los integrantes del contexto.

Así, en el caso de un sistema mecánico, las integrantes podrían ser posiciones o velocidades,

mientras que en el caso de un modelo económico, serían los diferentes indicadores usados en esta disciplina, o en un modelo ecológico, las diferentes especies que interaccionan.

Los grados de libertad de un sistema, son el número de integrantes (variables) requeridas para la descripción del sistema.

De hecho, el descubridor de los fractales, aunque no los bautizó como tales, fue el matemático francés Jean Perrin que durante sus estudios sobre el movimiento browniano en 1906, se dio cuenta, al estudiar la trayectoria que sigue una partícula, que era imposible trazarle una tangente, lo que lo llevó a deducir que: "las curvas con esta condición a las que no se les puede trazar una tangente son la regla en la Naturaleza" y que: "las curvas tales como el círculo son interesantes pero especiales". Punto de vista al parecer en contra de la lógica de nuestro pensamiento y que pudiera parecernos ingenioso pero artificial si no lo analizamos con más profundidad

Tal vez un caso que sirve para explicar al mismo tiempo la definición de un fractal, como lo vio Perrin, y la existencia real de los fractales es el caso de las costas. Si tratamos de medir una costa en un mapa con una escala de 1 / 100,000 nos daremos cuenta que lo primero es escoger con qué unidad de medida hemos de hacerlo, ya que la costa nos muestra que su superficie se encuentra llena de pequeñas bahías y cabos, es decir no sólo no es lineal, sino que está llena de entrantes y salientes. Si volvemos a examinar la misma costa, pero ahora en un mapa que tenga una escala de 1/10,000: aparecerán detalles de su forma, que no habían aparecido a la escala anterior y si hacemos la medida tomando una unidad 10 veces menor, veremos con sorpresa que nuestra medida de la costa ha aumentado. Y comprobaremos que este proceso lo podemos continuar indefinidamente, aumentando en igual forma la medida de la costa en tanto disminuvamos la unidad de medida utilizada en el procedimiento. Esto pone de manifiesto que la costa es un fractal; igual que la trayectoria que sigue la partícula browniana, su medición depende de la unidad que se use para estimarla, o bien puede ser considerada infinita. Es característico de los fractales, que la longitud entre dos de sus puntos aumenta al aumentar el detalle con que se examinan.

Un árbol es un objeto biológico que evoca la "autosimilitud" de los fractales; de hecho, basta cortarle una rama y plantarla en el suelo, para tener la impresión de encontrarnos frente a un árbol pequeño. La propiedad de esta dimensión fractal se nos presenta en las diferentes arborescencias al pasar del tronco a las ramas principales y, de éstas a las ramas secundarias y así hasta las ramitas. Aunque no es un objeto fractal perfecto ya que sus arborizaciones no son infinitas, es uno de los mejores ejemplos de que la dimensión fractal y su autosimilitud agregan una característica filosófica al principio holístico de Smut: "El todo no es igual a la suma de sus partes" ya, que a cualquier nivel en que se observe: "Existe un principio de identidad entre el todo y cada una de sus partes."

Los fractales biológicos no son realmente infinitos. Tal concepción iría en contra de las ideas básicas de la estructura atómica de la materia, entendiéndose ésta en el sentido que Demócrito le diera, como la incapacidad de dividir la materia al infinito.

La presencia de los objetos fractales en la naturaleza es tan amplia como nuestra capacidad de buscarlos. No hace falta mucha imaginación para darse cuenta de su existencia en las circunvoluciones cerebrales, en los múltiples pliegues de los peritoneos de los celomados, en los "árboles" arteriales y venosos, en los pelos adventicios de las raíces y las vellosidades de los intestinos. Esta característica fractal de la materia viva podemos interpretarla como una demostración de la gran necesidad de "espacio crítico", espacio requerido para llevar a cabo los muy numerosos procesos de la vida.

Hasta qué punto los fractales revelan el caos o el caos se nos revela en forma de fractales, será la pregunta de los próximos años. Por el momento sólo trato de conectar estos temas los cuales me parecen dos puntos de vista diferentes, de lo mismo.

Actualmente se buscan las huellas fractales del caos tanto en el comportamiento de las ondas cerebrales como en los comportamientos a veces inexplicables de la economía. Se han encontrado: en reacciones químicas oscilatorias, en la trayectoria de la mancha roja sobre la superficie de Júpiter, de la luna Quirón que se mueve entre Saturno y Urano en una órbita excéntrica inestable, en la trayectoria

de vuelo de los molestos mosquitos, en los latidos de las células de corazón de pollo, en el comportamiento de ciertos crustáceos, cuando les son alterados sus relojes biológicos, en muchos osciladores eléctricos y mecánicos. Este caos se ha hecho presente en modelos simulados de los más diversos fenómenos como son desde epidemias hasta la transmisión eléctrica en células nerviosas.

Otro ejemplo es un grano de café soluble. Si lo observamos a simple vista, nos percatamos de su intrincada superficie. Bajo el microscopio, será posible ver una gran cantidad de detalles, entrantes y protuberancias; amplifiquemos la imagen y nos parece que observamos lo mismo que antes, y así sucesivamente.

Los viajeros experimentados prefieren los asientos de los aviones lejos de las ventanas, pero los amantes de los fractales escogemos los asientos cerca de las ventanas para poder observar las nubes. Las nubes son magníficos fractales; tienen formas muy irregulares, sólo que los colores reflejados por las nubes se combinan suavemente entre sí, dando la impresión a la vista de ser más uniformes de lo que realmente son.

Debido a que la noción de longitud carece de significado en el caso de los fractales, los matemáticos han ideado un número, al que llaman dimensión, para cuantificar de qué modo llena el espacio un fractal. Este concepto nos es familiar, pues se aplica a los objetos de la geometría clásica o euclidiana, de tal forma que las rectas tienen dimensión uno, los círculos son de dimensión dos y las esferas lo son de tres. Pero los fractales tienen dimensión no entera, por lo que se le conoce como dimensión fractal (fraccionaria). Mientras que una línea euclidiana lisa llena exactamente un espacio unidimensional, una línea fractal (la de la costa citada ante-riormente) se extiende en un espacio bidimen-sional; por lo tanto, su dimensión se halla entre uno y dos. De manera similar, una superficie fractal (una montaña) tiene su dimensión entre dos y tres. Cuanto mayor es la dimensión de un objeto fractal, tanto mayor es la probabilidad de que una región determinada del espacio contenga una porción del objeto fractal. Para entender lo anterior, pensemos en las microvellosidades del intestino.

FRACTALES Y FISIOLOGÍA

Las estructuras fractales abundan en el cuerpo humano, como lo podemos observar en las redes nerviosas, los vasos sanguíneos y las vías respiratorias. La sangre fluye desde el corazón por las arterias y de regreso al corazón por las venas, pero ¿qué sucede en el intermedio?. Las arterias y las venas están conectadas por una red de pequeñas vénulas que sucesivamente se ramifican y ramifican hasta que finalmente se convierten en capilares microscópicos. El proceso de ramificación, como el que presenta el sistema de circulación sanguínea, es una característica de algunos fractales: la dimensión fraccional implica una estructura compleja en todas las escalas, con ramificaciones infinitas y donde la estructura de las partes pequeñas es similar a la de las partes grandes: dinámica caótica.

El sistema fractal estudiado con mayor detalle lo constituye el sistema de conductos pulmonares encargados del intercambio gaseoso en los mamíferos. Se ha encontrado recientemente, mediante el análisis detallado de las mediciones de las longitudes y diámetros de estos conductos, que a pesar de sutiles diferencias entre diversas especies, el tipo de factor de escala corresponde a lo predicho para las dimensiones de un objeto fractal.

En diversos experimentos se sugiere que el caos constituye una característica normal de diferentes componentes del sistema nervioso. Por ejemplo, se han analizado electroencefalogramas de individuos sanos y se han encontrado pruebas de caos en el sistema nervioso. También se han hallado indicaciones de caos en componentes del sistema nervioso que son responsables de la secreción hormonal. Se han analizado cambios temporales de los niveles hormonales en individuos sanos, hallando fluctuaciones aparentemente caóticas.

Otras investigaciones han simulado las interacciones entre las células nerviosas, para observar cómo podría surgir el caos, evidenciando que es posible generarlo en un modelo del sistema olfativo. Dicho modelo se vale de un bucle de realimentación entre las neuronas y un retardo en los tiempos de respuesta. Tal parece que las dinámicas caóticas en el ritmo cardiaco y otros sistemas controlados por el sistema nervioso pueden ofrecer numerosas ventajas funcionales. Los sistemas caóticos operan bajo una amplia gama de condiciones y son, por lo tanto, adaptables y flexibles. Esto les confiere una cierta plasticidad que permite a los sistemas sortear las exigencias de un ambiente cambiante e impredecible.

Muchas patologías exhiben un comportamiento cada vez más periódico y una pérdida de variabilidad. Tal parece que en las funciones corporales, el caos es señal de buena salud y que un comportamiento periódico puede ser un presagio de enfermedad, como se ha observado en los patrones de señales cerebrales en la esquizofrenia. Sumado a lo anterior, las primeras indicaciones de que el corazón agonizante puede comportarse periódicamente procedieron del análisis armónico de formas de onda electrocardiográficas de Fourier durante la taquicardia ventricular o la fibrilación ventricular, que son los ritmos cardiacos sumamente rápidos que con frecuencia provocan el paro cardiaco.

De manera similar, el sistema nervioso puede mostrar la pérdida de variabilidad y la aparición de periodicidades patológicas en la epilepsia, el mal de Parkinson y la depresión maniaca; además, en individuos sanos, el recuento de glóbulos blancos muestra cifras caóticamente variables; en enfermos de leucemia, dichos recuentos oscilan periódicamente.

Lo anterior no pretende concluir que los comportamientos caóticos son siempre señal de salud, ni que un comportamiento periódico regular sea un síntoma de enfermedad, pero la fisiología se puede convertir en un fértil campo de investigación para el estudio del caos y los fractales, así como otros fenómenos no lineales.

De tal manera, los fisiólogos tienen necesidad de lograr una comprensión con una visión holística de los fenómenos que les permita integrar la forma en que los procesos de desarrollo conducen a construcciones fractales y conocer por qué los procesos dinámicos en el organismo generan comportamientos caóticos. De tal forma podremos presenciar en el futuro estudios que nos puedan explicar de manera integral los procesos que llevan al envejecimiento, la propagación de enfermedades y de los impulsos nerviosos.

CELULAR

Cuando una máquina funciona mal, encontrar la solución es relativamente fácil; podemos dar con la o las piezas que provocaron la avería y las reparamos o reemplazamos. No sucede lo mismo cuando el cuerpo humano funciona mal: un médico puede diagnosticar la causa del malestar, pero en realidad el mal funcionamiento en nuestro organismo

es fruto de varios elementos y circunstancias encadenadas, pues el ser viviente está constituido por una serie infinita de bucles o rizos de retroalimentación. En estos rizos de los organismos vivos están entretejidos la conversión y aprovechamiento de los alimentos, la contracción muscular, la duplicación celular, el transporte de las hormonas y neurotransmisores, la regulación de la temperatura corporal, los reflejos y el latir del corazón.

Podemos decir que los rizos negativos regulan y que los rizos positivos amplifican. El ser vivo requiere del entrecruzamiento de miles de rizos para mantenerse y adaptarse a las exigencias del ambiente. A una maquinaria la podemos desarmar y rearmarla para corregir sus averías, pero no podemos hacer lo mismo con la materia viviente. En contraste, si se pierde una pieza de la máquina, ésta detiene su funcionamiento; si un organismo pierde una parte funcional, puede compensar la parte faltante mediante sus múltiples rizos de retroalimentación y seguir viviendo. Una última comparación, una máquina convierte el combustible en calor y movimiento, mientras que un organismo transforma el combustible en sí mismo por medio de la retroalimentación.

Estas propiedades, que son conocidas también como de feedback o retroalimentación, pero sobre todo la de autorrenovación constante, confieren a los seres vivientes características singulares que son nombradas con el concepto de autopoyesis.

Las estructuras autopoyéticas son sistemas abiertos desde el punto de vista termodinámico, y pueden ser divididas en autoorganizativos simples (las turbulencias, los remolinos y la gran mancha roja sobre Júpiter), estructuras disipativas más complicadas (la reacción de Belousov-Zhabotinsky) y sistemas autopoyéticos de elevada complejidad (nosotros mismos).

A pesar de su remarcada autonomía, las estructuras autopoyéticas son paradójicas por naturaleza. Están ligadas unas con otras en complejas redes de interdependencia (cadenas y redes tróficas); tienen límites definidos, tales como las membranas semipermeables, pero estos límites son abiertos y permiten al sistema conectarse con el medio circundante de formas muy variadas y complejas.

Desde los comienzos de la vida en la Tierra, ésta se ha construido mediante una interconexión basada en la retroalimentación. Esa interconexión tiene sus

orígenes en el caos. Las estructuras disipativas que condujeron a la aparición de la vida en nuestro planeta, tal vez comenzaron en el caótico contacto entre superficies sólidas, líquidas y gaseosas, donde hay un flujo de alta energía. Algunos científicos sugieren que en este nexo caótico las estructuras químicas autocatalíticas como la famosa reacción de Belousov-Zhabotinsky constituyeron una forma de protovida y que en la Tierra primitiva florecieron muchas variaciones de este tipo de reacción. Reaccionando ante este ámbito alejado del equilibrio, los derivados de estas primigenias estructuras autocatalíticas, autorreferenciales y autosimilares, se eslabonaron para formar una estructura más vasta de rizos de retroalimentación llamada hiperciclo. De esta forma, el ARN era un hiperciclo.

Los pasos posteriores al surgimiento del ARN que dieron origen al ADN, fueron decisivos para la autosimilitud surgida del caos. Por medio de dichos ácidos nucleicos, el hiperciclo incrementó en gran medida su capacidad para la iteración (repetición) y la autorreplicación. Debido a que el proceso de copia del ADN también creaba variaciones, las iteraciones no sólo reprodujeron las mismas formas sino que dieron paso a gran cantidad de formas nuevas. Los microbios surgidos del hiperciclo del ARN eran sumamente adaptables ante las crudas condiciones de la Tierra primitiva.

Las miles de variedades de microbios que inicialmente habitaron y todavía habitan nuestro planeta se adaptan pasando fragmentos de ADN. Una especie de bacteria se puede alterar mediante el simple expediente de barajar su código genético, absorbiendo nuevos fragmentos de ADN o cediendo fragmentos viejos. Mediante este método, las bacterias transformaron la Tierra. El método permitió que equipos integrados por diferentes especies bacterianas se acoplaran y los productos de desecho de una especie se convirtieran en recursos alimentarios de otra.

El teórico de sistemas Erich Jantsch señaló una vez que si la meta de la evolución fuera simplemente la adaptación, el cambio evolutivo habría cesado con las bacterias. El mecanismo de mutación del ADN de las bacterias les permite mutar y adaptarse a toda clase de condiciones adversas con asombrosa celeridad. Pero la evolución parece tener otras metas, sugiere Jantsch, y una de ellas podría ser la mera *intensificación de la vida*. En la próxima etapa de

intensificación, la retroalimentación biológica evolucionó hacia una forma radicalmente nueva.

Entre los científicos existe un creciente respaldo hacia una revolucionaria teoría de la evolución por retroalimentación propuesta por la microbióloga Lynn Margulis, de la Universidad de Boston. Margulis cree que la nueva clase de célula, que apareció hace aproximadamente 2,200 millones de años para convertirse en la base de las células de todas las plantas y animales multicelulares que existen hoy, no fue resultado de una mutación genética sino de una simbiosis. No fue producto de una brutal competencia por la supervivencia del más apto, sino de la cooperación. En su libro Microcosmos, escrito con su hijo Dorion Sagan, esta científica afirma: La competencia en la cual el fuerte gana, ha recibido mucha mejor prensa que la cooperación. Pero ciertos organismos superficialmente débiles han sobrevivido formando parte de entidades colectivas, mientras que los presuntamente fuertes, al no haber aprendido el truco de la cooperación, fueron arrojados a la pila de desechos de la extinción evolutiva.

Aunque al principio escépticos, la mayoría de los biólogos ahora concuerdan con Margulis y aceptan que la evolución dio un salto brusco cuando los microbios se acoplaron simbióticamente en reacción ante el holocausto, resultante de la propagación de un producto tóxico de desecho liberado por las cianobacterias, perjudicial para la mayor parte de la vida bacteriana, las cianobacterias incluidas. Esta toxina contaminante era el oxígeno. El holocausto por oxígeno, como se lo ha llamado, causó una muerte masiva de bacterias e impuso mutaciones que crearon nuevas especies. Algunas bacterias se escabulleron bajo tierra para huir del gas letal, otras desarrollaron la capacidad para respirar oxígeno; otras entablaron relaciones de retroalimentación que condujeron a un nuevo paso en la evolución. Margulis sugiere que estaba montado el escenario para la simbiosis cuando una de las cianobacterias que estaba provocando el holocausto por oxígeno entró en otra bacteria en busca de alimentos. El organismo huésped se protegió de la repentina presencia del oxígeno de esa célula formando una membrana nuclear alrededor de su ADN y esto creó la primera célula nucleada.

Una segunda invasión (esta vez llevada a cabo por bacterias alargadas que *respiraban* oxígeno y entraron en un organismo huésped) activó un cambio claramente simbiótico. Margulis teoriza que al combatir la invasión de los que respiraban oxígeno, el organismo huésped terminó formando eslabones de retroalimentación con el invasor y el invasor se quedó, transformando la retroalimentación en un arreglo muy beneficioso. La relación otorgó al huésped la capacidad para usar el oxígeno como fuente energética y a la vez dio al invasor alargado un ámbito permanente de sostén. La simbiosis testimonia el principio de que una estructura autopoyética cambia con el objeto de permanecer igual. También demuestra uno de los extraños modos en que se produce el acoplamiento por retroalimentación. Este intento de rechazar a un intruso creó una interacción que a su vez creó un matrimonio, de forma tal que el apareamiento simbiótico entre las dos especies bacterianas eventualmente fue tan completo que sólo quedan algunos indicios del origen distinto del intruso. Uno de ellos es el hecho de que los actuales descendientes de esas bacterias intrusas (llamadas mitocondrias) forman parte permanente de nuestras células, pero aún poseen un ADN separado.

Margulis cree que el reino vegetal nació en un proceso similar cuando células huésped nucleadas fueron invadidas por las cianobacterias, amantes del sol y productoras de oxígeno. La resultante interacción por retroalimentación convenció a las cianobacterias de quedarse como cloroplastos y otorgó a la nueva célula la capacidad para crear energía a partir del agua y la luz solar y, posteriormente, junto con las mitocondrias de las células, para respirar lo que antes era un desecho tóxico. Los cloroplastos también tienen su propio ADN.

Las bacterias espiroquetas, veloces y con forma de tornillo, constituyeron otra intrusión transformada en simbiosis. Si ella está en lo cierto (muchos biólogos no aceptan esta parte de su teoría), las espiroquetas entablaron una relación de retroalimentación particularmente variada con sus células huésped. Se transformaron en flagelos y cilios, dando movilidad a las nuevas células nucleadas. También se transformaron en microtúbulos, estructuras fibrosas del interior de la célula que desempeñan diversas funciones, desde el acarreo de mensajes químicos y secreciones a través de la célula hasta la organización de la división de cromosomas en el núcleo. Margulis cree que en el curso de la evolución los microtúbulos de las células también evolucionaron para formar axones y dendritas, los extremos activos de las neuronas. La primitiva retroalimentación entre espiroquetas y células huésped puede haber conducido así al desarrollo del cerebro.

La retroalimentación simbiótica que dio a las células la capacidad para moverse, realizar la fotosíntesis y usar el oxígeno para transformar y utilizar químicamente sus alimentos, condujo eventualmente a otros tipos de retroalimentación.

A manera de conclusión, podemos decir que a pesar de que raramente pensamos en esta forma, la vida de una persona en nuestra compleja sociedad depende enormemente de sistemas dinámicos artificiales y naturales. Como dijimos anteriormente, un sistema dinámico es una colección de componentes que interactúan entre sí y repercuten en las demás con el tiempo. Algunos ejemplos son los sistemas de distribución de energía eléctrica, el clima, los sistemas de computadoras, inclusive el ecosistema planetario. Decimos que los sistemas dinámicos pueden exhibir un comportamiento que puede ser estable o caótico. Se puede pensar que la palabra caótico tiene connotaciones negativas, pero no es necesariamente así. Cuando estamos disfrutando del calor del fuego en una noche de campamento, observando las volutas de humo ascendiendo hacia el cielo, lo que observamos es un sistema dinámico caótico constituido por el aire, el fuego, y la madera. Esa clase de caos genera placer y no causa ningún problema. En cambio, cuando las interacciones caóticas en los sistemas de energía eléctrica causan una falla, la connotación es, por supuesto, negativa. Sabemos también que los programas de computadoras (los cuales no son otra cosa que ecuaciones) la mayoría de las veces son estables para algunos valores de entrada pero exhiben un comportamiento caótico para otros. Es importante reconocer esta situación: ciertas fórmulas explotan y actúan impredeciblemente en ciertas ocasiones. Si un programa de este tipo se utilizara para calcular la posición de una nave espacial justo antes de entrar a la atmósfera terrestre, la región caótica del programa podría causar serias consecuencias.

Si empezamos a sentir que hay algo más atrás de los fractales que imágenes bellas o un medio educacional, se está en el camino correcto de que el universo de los fractales es parte del tema más importante, que es la relación entre la humanidad y el mundo natural.

REFERENCIAS

- Abraham R H y Christopher D (1984) Shaw: Dynamics The Geometry of Behavior, Part 1: Periodic Behavior, Santa Cruz, Aerial Press.
- Arnold V (1963) Small Denominators and Problems of Stability of Motion in Classical and Celestial Mechanics, Russ. Math. Surv. 18:85-98.
- 3. Beir U (comp.)(1966): The Origin of Life and Death, Londres, Heinemann.
- Blank-Cereijido F y Cereijido M (1988) Lavida, el tiempo y la muerte. Fondo de Cultura Económica, México, 1a. ed., 158 p.
- 5. Boiteux A y Chance B (1970) Oscillatory phenomena in biochemistry. 8th Int. Congr. Biochem., Lucerna.
- 6. Briggs Jy Peat FD (1994) Espejo y reflejo: del caos al orden. Guía ilustrada de la teoría del caos y la ciencia de la totalidad. Editorial GEDISA, España, 223 p.
- Mandelbrot B B (1977) The Fractal Geometry of Nature, W.H. Freeman, San Francisco.
- Margulis Ly Sagan D (1986) Microcosmos, Nueva York, Summit Books.
- 9. May RM (1976) Nature 261: 459-467
- May R M (1991) El caos en biología. Mundo científico, 11:115,746-754.
- Reyes J J (1993) Vida, orden y caos. Propuestas para nuevos enfoques en biología. Serie Libros de Texto. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, México, 199p.
- 12. Rietman E (1989) Exploring the Geometry of Nature. Computer Modeling of Chaos, Fractals, Cellular Automata and Neural Networks. Windcrets Books, Filadelfia.
- Stauffer Dy Stanley HE (1990) From Newton to Mandelbrot. A Primer in Theoretical Physics. Springer- Verlag, Berlin.
- Wrigglesworth J M y Packer L (1968) Optical rotatory dispersion and circular dichroism studies in mitochondria: correlation of ultrastructure and metabolic state with molecular conformational changes. Arch Biochem Biophys, 128:790-801.
- Zhabotinski A M (1964) Periodic course of oxidation of Malonic Acid in Solution, en *Biophysics*, Nueva York, 9:306-311.

ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DEL RECEPTOR A PROTEÍNAS MODIFICADAS, RECEPTOR "BASURERO" O "SCAVENGER"

El transporte intercelular de lípidos a través del sistema circulatorio requiere de la formación de acarreadores solubles en agua llamados lipoproteínas, los cuales a su vez requieren de mecanismos de reconocimiento celular específicos que permiten a estas lipoproteínas encontrar sus células blanco. La clasificación de las lipoproteínas de mamífero incluye a las lipoproteínas de baja densidad (LDL), como el principal transportador de ésteres de colesterol en el plasma humano, lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), un acarreador rico en triglicéridos sintetizado por el hígado, y los quilomicrones (acarreadores ricos en triglicéridos de la dieta sintetizados en el intestino). Estas lipoproteínas tienen diferentes proteínas asociadas a ellas (llamadas apolipoproteínas) y diferente composición lipídica así como diferentes actividades fisiológicas. El receptor a estas lipoproteínas me-jor caracterizado es el receptor a LDL. Este receptor reconoce los apolipoproteínas B-100 (apo B-100) y E (apo E), que son constituyentes de las lipoproteínas LDL, VLDL, IDL y quilomicrones catabolizados (remanentes de quilomicrones).

Estos receptores LDL y la mayoría de los receptores de superficie celular de mamíferos que median en la adhesión y señalamiento exhiben dos características de unión de tipo ligando/receptor: una alta afinidad y una estrecha especificidad (solamente une a un ligando o a una clase de ligandos altamente relacionados). Las propiedades de unión del ligando de dos receptores a lipoproteínas han sido recientemente caracterizados, tanto para el receptor a proteínas acetiladas o receptor scavenger o basurero, como para el receptor relacionado al receptor LDL (LRP). Estos receptores no unen a un sólo tipo de ligando, apartandose de una característica dominante en el análisis de receptores de superficie. La unión de ligando a los receptores scavenger (tipo I y II) y a LRP se caracteriza por una alta afinidad, pero aunado a una muy baja especificidad. Esto quiere decir que existe un sólo tipo de receptor para muchos ligandos. Como consecuencia, estos receptores reconocen tanto a lipoproteínas como a ligandos no lipoprotéicos. Esta diversidad de ligandos ha llevado a proponer que estos receptores participan en una amplia variedad de procesos biológicos.

El receptor scavenger fue descubierto en el laboratorio de los doctores Brown y Goldstein en Dallas en el año de 1979. Estos investigadores y sus colegas habían descubierto previamente a los receptores LDL y al momento del descubrimiento del receptor scavenger se encontraban examinando los posibles mecanismos para la acumulación de partículas VLDL ricas en colesterol en la pared de las arterias durante la formación de la placa atereoesclerótica. Una de las características tempranas en el desarrollo de la placa atereoesclerótica es la acumulación de colesterol por los macrófagos subendoteliales. La observación de que niveles de VLDL plasmático elevado están correlecionados con un riesgo aumentado para el desarrollo de la atereoclerosis sugería que los receptores LDL pudieran mediar la internalización de altas concentraciones de colesterol a través de las partículas VLDL en estos macrófagos. Sin embargo, estudios relacionados tanto en in vitro como in vivo indicaron que el receptor VLDL no es requerido y probablemente no tiene ninguna relación con la acumulación masiva de colesterol en los macrófagos durante la aterogénesis. Por lo tanto, se sugirió la existencia de mecanismos alternos requeridos para poder explicar los niveles elevados de colesterol acumulados en los macró-fagos. Fue así, que descubrieron la existencia de un receptor al que denominaron receptor scavenger o basurero en estos macrófagos, el cual sí podía mediar la endocitosis de cantidades elevadas de lipoproteínas LDL químicamente modificadas. Actualmente estos receptores originalmente llamados receptores para acetil LDL (AcLDL) son en nuestros días llamados receptores scavenger o "basureros" debido a su amplia especificidad de unión a diferentes ligandos modificados de tal manera que carecen de función o la tienen muy disminuida. Actualmente se conoce que este receptor puede unir ligandos de muy diferentes características: proteínas modificadas químicamente como lo podrían ser las lipoproteínas LDL acetiladas, lipoproteínas LDL oxidadas, albúmina sérica/ maleimida, poliribonu-cleótidos, incluyendo poli I y poli G, polisacáridos como el de extran sulfato, fosfolípidos aniónicos como la fosfatidilserina, así como otras moléculas como los polivinil sulfatos. A pesar de que algunos de estos ligandos, como lo podrían ser las Ac LDL y el polivinil sulfato, no son moléculas que se presentan en forma natural y por lo tanto no son fisiológicamente relevantes, se puede considerar que comparten características estructurales con los diferentes ligandos naturales requeridos para la alta afinidad de estos receptores que presentan constancias de disociación en el rango nM.

Las dos isoformas del receptor scavenger llamadas tipo I y II son generadas por cortes alternativos del ARN mensajero que se transcribe en un sólo gene localizado en el cromasoma 8 de ratones y humanos. Los ADNs complementarios para receptores tipo I y tipo II han sido transfectados en células COS (fibroblastos de primates) y en células de ovario del hamster chino (CHO). Estas células han sido utilizadas para examinar las propiedades del receptor así como el estudio de su biosíntesis, la trimerización de la molécula, procesamiento postranscripcional, así como sus estructuras. Estos estudios sugieren que el receptor scavenger tipo I consiste en una proteína integral de membrana multimérica que comprende de entre 451 y 454 aminoácidos. La estructura que se ha propuesto para este receptor está compuesta por seis dominios distintos numerados del I al IV: I) el dominio citoplásmico n-terminal que comprende del aminoácido 1 al aminoácido 50, II) un dominio simple transmembranal del aminoácido 51 al aminoácido 76 y 4 dominios extracelulares. Los dominio espaciador III (de los aminioácidos 77 al 150), y los dominios IV (de los aminoácidos 151 al 271), V (de los aminoácidos 272 al 343) y VI (de los aminoácidos 344 al 453). Las características de secuencia compartidas por los diferentes receptores tipo I incluyen seis cisteínas conservadas cada una de ellas en los dominios I, III y VI, una prolina en la región media del dominio transmembranal que puede influir a su vez en la estructura y así como el empacamiento del receptor, y 6 sitios de glicosilación en esparragina en los dominios III y IV. El receptor scavenger tipo II difiere del receptor scavenger tipo I solamente en su región rica en cisteínas y en que el dominio carboxilo terminal es reemplazado por un carboxilo terminal corto de alrededor de 7-17 aminoácidos. Independiente al hecho de que presenta carboxilo terminal truncado, el receptor tipo II conserva una alta especificidad así como una amplia afinidad para ligandos, similar al comportamiento del receptor tipo I. La presencia de una tripleta repetida en estas moléculas sugiere que la estructura que se confiere a estos receptores es una estructura clásica

de triple hélice similar a la de la colágena de aproximadamente 200 Å de largo. Estos receptores scavenger fueron las primeras proteínas integrales de membrana en las que se reportó que contienen un dominio colagenoide de este tipo. El análisis de la secuencia de aminoácidos de estas proteínas, experimentos de mutagénesis, así como estudios utilizando análogos, sugieren que este dominio colagenoide cargado positivamente sirve como sitio de unión a múltiples ligandos poliénicos que a su vez juegan un papel central en la función del receptor scavenger.

A diferencia del receptor LDL clásico, la actividad del receptor scavenger no es suprimida por niveles elevados de colesterol celular, ya que a diferencia de estos receptores, el receptor scavenger puede mediar una acumulación masiva de colesterol en los macrófagos. Es interesante observar que la amplia especificidad de unión que presentan los receptores scavenger pueden ocasionalmente ser más deleteria que benéfica, por ejemplo, estos receptores pueden unir específicamente cristales de asbesto, sugiriendo su participación en interacciones patológicas de asbestos inhalados en macrófagos alveolares. Más aún, el reconocimiento que presentan estos receptores scavenger por lipoproteínas de tipo LDL oxidadas pueden ser normalmente protectores, ya que los lípidos oxidados en este tipo de partículas lipoprotéicas pueden matar a la célula. Sin embargo, en el caso de la hipercolesterolemia, la internalización masiva de colesterol en forma de lipoproteínas oxidadas a través de estos receptores scavenger pueden saturar el sistema normal de internalización de colesterol y a su vez contribuir en el desarrollo de la atereosclerosis. Experimentos recientes apoyan la posibilidad de que estos receptores puedan proveer al macrófago con un mecanismo general de internalización de patógenos al reconocer componentes de su superficie celular. Por ejemplo, algunas formas de endotoxinas bacterianas se unen a los receptores scavenger tipo I y tipo II y son eliminados de la circulación in vivo. Por lo tanto, se ha sugerido que estos receptores pudieran proteger al organismo de shock endotóxico durante sepsis bacteriana por bacterias gram negativas. En conclusión, a medida que un mayor número de sistemas ligando receptor son caracterizados a nivel molecular, la propiedad exhibida por el receptor scavenger de como un receptor multiligando pudiera dejar de ser la excepción para convertirse en un sistema de amplio uso por diferentes tipos celulares.

> Jaime Mas Oliva Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México Apartado Postal 70-243, México, D F 04510

DISCURSO DEL DR. ADOLFO GARCÍA SÁINZ AL RECIBIR EL PREMIO NACIONAL DE CIENCIAS Y ARTES 1997

El Dr. Adolfo García Saínz, investigador del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM recibió el Premio Nacional de Ciencias y Artes 1997, quien fue distinguido para responder las palabras del Presidente de la República a nombre de todos los galardonados. A continuación se transcribe su discurso en forma íntegra.

SR. PRESIDENTE DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS:

Los que hoy recibimos el Premio Nacional de Ciencias y Artes, en sus ramas científicas y tecnológicas, agradecemos a los jurados el habernos considerado dignos de este reconocimiento. Es un gran honor para nosotros recibir ésta, la máxima distinción que otorga nuestro país, a sus científicos y artistas. Nuestra obra es fruto no sólo de nuestro trabajo, sino también de la educación que recibimos de nuestros maestros, de la ayuda de nuestros alumnos y colaboradores, de la UNAM y del CINVESTAV, que generosamente nos han abierto sus puertas, de instituciones, como el CONACyT, que nos han dado los recursos para realizar nuestros proyectos, y del gran cariño y la enorme paciencia de nuestras familias. A todos ellos nuestro reconocimiento y nuestra gratitud.

Cuando me pidieron que dijera algunas palabras en esta ceremonia, inmediatamente surgió en mí el deseo de compartir con usted, algunas ideas sobre México y su ciencia.

- De acuerdo al SNI, en México hay aproximadamente 6 mil 500 investigadores. Dado que el país cuenta con aproximadamente 93 millones de habitantes, es evidente que constituimos una subespecie muy poco representada. Somos una comunidad pequeña, pero no por ello despreciable; hay en ella buenos investigadores, que realizan trabajo de muy alto nivel dentro de los estándares internacionales. Sin embargo, si aspiramos a estar dentro del concierto de las naciones desarrolladas, debemos poseer una infraestructura científica y tecnológica fuerte y ello exige un número mucho mayor de investigadores de muy alta calidad
- Bien dijo usted señor Presidente, en la presentación del Programa de Ciencia y Tecnología, que «fortalecer la educación básica, tiene una importancia estratégica en el desarrollo científico del país». Los niños y jóvenes que se están formando serán los investigadores de un mañana ya muy cercano. En sólo 20 o 30 años, ellos serán los científicos del país; muy pocos años en la vida del hombre y casi nada en la

Historia de la Nación. Es indispensable reforzar cada vez más, la educación básica y media en matemáticas, física, química y biología. Estos conocimientos constituyen el cimiento donde se sustenta toda la formación científica y se adquieren, al igual que los hábitos de estudio y trabajo, en la educación básica. Invaluable es el maestro que logra despertar en sus alumnos el interés por estas disciplinas, aquel que impulsa al educando a apreciar el universo que nos rodea, a tratar de entender por qué y cómo ocurren las cosas. Que esto son las ciencias.

- No estamos teniendo gran éxito en atraerjóvenes hacia la ciencia; más parece que los estamos ahuyentando. Los datos de la ANUIES señalan que el número de estudiantes incorporados a carreras que tienen alguna relación con la ciencia, es bajo y en las propiamente científicas es aún mucho menor. Esto contrasta dramáticamente con la saturación que existe en otro tipo de licenciaturas.
- Por otro lado, nuestros posgrados son aún pequeños. Sin embargo, en los últimos años ha habido cierto crecimiento. Igualmente, los programas de repatriación están permitiendo traer al país a jóvenes investigadores mexicanos, entrenados en el extranjero. El posible y deseable aumento en el número de investigadores debe traer aparejadas algunas medidas como la creación de áreas físicas adecuadas para realizar el trabajo. Los polos de desarrollo que nuestros principales centros de investigación están creando en estrecha colaboración con las Universidades Públicas de los Estados, constituyen una excelente oportunidad para hacer crecer a la ciencia, fortalecer instituciones y favorecer la descentralización de esta actividad en el país.
- Me referiré, ahora, a un vicio que azota a nuestra pequeña comunidad. Es cíclico, ocurre con cierta periodicidad; no es exclusivo de México, sino común a muchas partes del mundo; tampoco es nuevo, pues ha ocurrido desde hace muchos años. Es como un viento

que se convierte en tempestad y que luego se retira sin dejar beneficio alguno. Es la pretendida lucha entre ciencia y tecnología. Se dice que la ciencia es la madre de la tecnología, que a su vez nutre a la industria. ¿Quién, en su sano juicio, pensaría que para tener desarrollo tecnológico se debe sacrificar a la ciencia? ¿Quién, para fortalecer al arroyo que mueve a las ruedas de los molinos, pensaría en secar el manantial? ¿Habrá alguno que no repare que allí, donde los principios o los hechos son descubiertos, brotan también las aplicaciones? En realidad, la ciencia es sólo una y nuestra obligación en las universidades es contribuir al conocimiento. Tanto las ciencias puras como las aplicadas requieren de mucho apoyo. Es indispensable, además, diversificar las fuentes de financiamiento y favorecer el diálogo entre los diversos sectores.

- Debe reconocerse que a pesar de las crisis financieras, en los últimos años se ha sostenido el apoyo a la investigación. Sin embargo, los montos máximos de los apoyos a proyectos individuales de investigación que ha establecido el CONACyT se han mermado en términos internacionales y son claramente insuficientes para sostener proyectos de alta calidad. Además, el talento excede a los recursos y hay proyectos que no se apoyan, no por falta de calidad, sino por falta de fondos. En el Programa de Ciencia y Tecnología se estableció la intención de incrementar el porcentaje del Producto Interno Bruto destinado a la investigación. Esta manifestación nos satisface profundamente y deseamos que establecida la voluntad de hacerlo, las condiciones económicas permitan su implementación.
- Un problema ya de muchos años han sido los impuestos por importación. De cada peso que recibimos, entre 20 y 40 centavos se regresan a la Federación por concepto de impuestos de importación y almacenaje aduanal. Pocas noticias mejores, que la de ver hoy

publicado en el Diario Oficial un Decreto que establece un mecanismo de excepción de impuestos a las importaciones asociadas a la investigación científica, procedentes de países con los que tenemos tratados de libre comercio y la normatividad correspondiente. Sin duda, una noticia magnífica que alegra a toda nuestra comunidad y que agradecemos profundamente. Prueba tangible de la voluntad del gobierno para apoyar a la investigación científica.

Señor Presidente, distinguida audiencia, he dibujado a Ustedes, con trazo ligero y sin entrar en detalle, algunos aspectos de nuestro quehacer cotidiano. Sin embargo, mi participación no estaría completa sin señalar, que a pesar de cualquier dificultad existe un compromiso de nuestra comunidad con el país. Estamos convencidos de que la ciencia es un motor para el desarrollo de México y que además, junto con las Artes, las Ciencias constituyen las alas del águila que es el espíritu nacional. Las contribuciones de los mexicanos al conocimiento universal son parte de nuestro patrimonio como país. La ciencia es y debe ser parte de nuestra cultura. Los investigadores también somos México y realizamos nuestro trabajo con la convicción de que cada descubrimiento y cada nuevo investigador formado, son nuestra aportación a la patria y un pago a nuestra sociedad.

Finalizo señalando que recibimos este reconocimiento con un gran orgullo, con plena satisfacción, con profundo agradecimiento y ratificando un total compromiso con nuestro querido país.

Muchas gracias.

Dr Adolfo García Sáinz Instituto de Fisiología Celular Universidad Nacional Autónoma de México

ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A.C.

CONGRESO

11 de agosto de 1998 Palacio de la Antigua Escuela de Medicina, U.N.A.M. Tacuba y Brasil, Centro Histórico de la Ciudad de México

INFORMES:

Sra. Elisa Mora

Departamento de Bioquímica

Facultad de Medicina

Universidad Nacional Autónoma de México

Apartado Postal 70-291

04510 México, D. F.

Teléfono: 623-2170

Fax:

616-2419

Correo electrónico:

beb@laguna.fmedic.unam.mx

ORGANIZADOR:

Alejandro Zentella Dehesa

Departamento de Bioenergética

Instituto de Fisiología Celular

Universidad Nacional Autónoma de México

Teléfono: 622-5609

Fax:

622-5611

Correo electrónico:

azentell@ifcsun1.ifisiol.unam.ms

OBJETIVOS:

El Congreso de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C., tiene como objetivo principal, que los profesores de bioquímica y áreas afines de las licenciaturas y posgrados del país, tengan un foro donde puedan compartir sus experiencias docentes en un ambiente crítico y altamente académico.

PARTICIPANTES:

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

TEMAS:

Con el fin de enfocar las presentaciones al área de la docencia de la bioquímica. Se aceptará un máximo de dos trabajos por ponente. Las presentaciones deberán caer dentro de los siguientes temas:

Análisis sobre la efectividad y/o aplicación de planes de estudios ya en marcha.

Aplicación de sistemas de enseñanza mediada por computadora.

Efectividad de diferentes sistemas de evaluación. Estudios poblacionales sobre índices de aprobación y/o deserción.

Desarrollo de modelos bioquímicos y/o fisiológicos para la docencia.

Implementación y/o innovación de prácticas de laboratorio.

Otros trabajos que carezcan de un análisis formal o que sólo presenten o comenten planes de estudio, exámenes y otros instrumentos de evaluación, el uso de técnicas motivacionales y/o material didáctico y juegos empleados en clase entrarán en una categoría aparte bajo:

Experiencia Docente

Se otorgarán dos premios de 1,000.00 pesos (M.N.), uno al mejor trabajo proveniente de universidades del interior del país y otro proveniente del D.F.

No podrán participar en este concurso los miembros del Consejo Directivo de nuestra Asociación ni los miembros organizadores del Taller de Educación Bioquímica.

Los resúmenes no deberán exceder de una hoja con 2.5 cm (una pulgada) libres en los cuatro márgenes y un tipo de letra Arial o Helvética de 10 puntos. Se deberá especificar: título, autores y adscripción, introducción, objetivo, métodos y/ o técnicas empleadas, resultados y conclusiones. El resumen podrá tener un esquema, figura o tabla. Ejemplo:

INFLUENCIA DE LA EDUCACIÓN MEDIA SUPERIOR SOBRE EL ÍNDICE DE APROBACIÓN DEL CURSO DE BIOQUÍMICA.

(renglón libre)

José Luis Vázquez Esquivel, María Angélica López Fernández, Antonio Martínez Colín. Universidad Independiente de Santa Cruz. México D.F., 04510, México. (renglón libre)

RESUMEN...

Enviar hoja de registro y dos originales del resumen a la Sra. Elisa Mora, Apartado Postal 70-291, Código Postal 04510, México, D. F. Inscripción: Depositar 100.00 pesos (M.N.), a nombre de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C., en la cuenta Bancomer No.

1153813-9 y enviar copia de la ficha de depósito.

Informes: llamar a la Sra. Elisa Mora al teléfono: (5) 623-2170, o enviar Fax en atención a la Sra. Elisa Mora al (5) 616-2419. Enviar correo electrónico a: beb@laguna.fmedic.unam.mx.

VI CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A.C.

FORMA DE REGISTRO

DATOS PERSONALES NOMBRE(S)	API	ELLIDOS	
MIEMBRO DE LA ASOCIA			
	SI		
NOMBRAMIENTO		MEDIO TIEMP	PLETO
CARRERA EN LA QUE IM BIOQUÍMICA O MATERIA	IPARTE AS AFINES		
ADSCRIPCIÓN UNIVERSIDAD ————			
FACULTAD O ESCUELA _		DEPART	AMENTO
DIRECCIÓN CALLE Y NÚMERO			
COLONIA		CIUDAD	
ENTIDAD FEDERATIVA	CĆ	DIGO POSTAL	(Apartado Postal)
TELÉFONO:		FAX:	
CORREO ELECTRÓNICO:_			
Aplicación de siste Efectividad de difer Estudios poblacion Desarrollo de mode	ENVIADOS:	ación de planes de estud mediada por computado	dios ya en marcha ora *

CONVOCATORIA

REGISTRO DE CANDIDATOS PARA OCUPAR LA PRESIDENCIA DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A.C.

De acuerdo al artículo noveno de los estatutos de nuestra Asociación, el Consejo Directivo convoca a sus asociados a postular candidatos para ocupar la Presidencia de la Asociación durante los próximos dos años, a partir de septiembre de 1998.

Los candidatos deberán ser propuestos por escrito por asociados numerarios, y cada candidato postulado deberá entregar la siguiente documentación:

- Consentimiento por escrito para ser postulado.
- Proyecto de trabajo por dos años en caso de ser electo.
- Curriculum vitae.

Para que cada candidato quede propiamente registrado, las cartas de postulación de los asociados y la documentación de cada candidato deberán ser entregados en el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM antes del primero de julio de 1998.

De acuerdo al artículo decimosegundo de nuestros estatutos, el próximo presidente se eligirá de la lista de candidatos, durante la reunión de negocios realizada durante el VI Congreso de la Asociación el 11 de agosto de 1998 en el Antiguo Palacio de la Escuela de Medicina de la Facultad de Medicina de la UNAM.

Ningún candidato podrá ser registrado una vez que el Consejo Directivo haya analizado todas las propuestas para generar la lista de candidatos elegibles.

correo electrónico beb@laguna.fmedic.unam.mx

Entrega de documentación:

Sra. Elisa Mora Cubículo 3 del Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina. UNAM Ciudad Universitaria, México, D.F. 04510. Tel: 623-21-70, Fax: 616-24-19

ACTUALIZACIÓN DE MEMBRESÍA A LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A.C.

Los asociados numerarios que quieran renovar su membresía deberán cubrir su cuota anual. Esta cuota permitirá recibir el BEB, asistir al Congreso con una cuota de inscripción reducida y participar en las sesiones de negocios.

Para quienes deseen formar parte de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímia, A.C. les recordamos que de acuerdo al artículo trigésimo sexto de nuestros estatutos deben ser profesionales que ejerzan la docencia de bioquímica en cualquier centro de educación media superior. Los candidatos deberán enviar una carta solicitando su ingreso a la Asociación junto con su curriculum vitae. Esta solicitud deberá ir acompañada por dos cartas de apoyo de dos miembros numerarios. Si no conoce a ningún miembro que pueda apoyar su solicitud, háganoslo saber y envíe su solicitud al:

Dr. Alejandro Zentella
Apartado Postal 70-243
México D.F. 04510 México
FAX: (5) 622-56-11
correo electrónico: azentell@ifcsun1.ifisiol.unam.mx

MONTO DE LA CUOTA ANUAL

Asociados numerarios	100.00 pesos (M.N.)
Asociados estudiantes	50.00 pesos (M.N.)
Asociados numerarios	
que radican fuera de México	10.00 dólares (US)
Suscripción al BEB	

Deposite su pago a la <u>cuenta Bancomer No. 1153813-9</u> llenando la ficha de depósito <u>a nombre de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C. Escriba su nombre completo en la parte superior de la ficha de depósito y envíe por fax una copia de la ficha, junto con su forma de actualización (ver forma anexa). Si radica fuera de México comunicarse con el Dr. Zentella para especificar la forma de pago.</u>

Durante el VI Congreso podrá canjear la ficha de depósito por un recibo oficial de la Asociación por el pago de su cuota anual.

Enviar copia de ficha de depósito y forma de actualización vía fax a:

Sra. Elisa Mora, al (5)616-24-19 Dr. Alejandro Zentella, al (5)622-56-11

FORMA DE ACTUALIZACIÓN DE MEMBRESÍA A LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A.C.

MERARIO	☐ ESTUDIANTE
pesos	dólares \$50 pesos
□ SI	No
clase:	
TITUCIÓN	
A	Apartado Postal: FAX:
	•
	MERARIO pesos

XXV TALLER DE ACTUALIZACIÓN BIOQUÍMICA

El Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM, hace una cordial invitación a todos los Profesores que imparten Bioquímica y materias relacionadas a que se inscriban al XXV Taller de Actualización Bioquímica, el cual se realizará del 10 al 14 de agosto de 1998 en el Palacio de la Antigua Escuela de Medicina de la UNAM, ubicado en las calles de Tacuba y Brasil en el Centro Histórico de la Ciudad de México.

Informes:

En el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, UNAM, con los doctores: Marco Antonio Juárez O. (majo@servidor.unam.mx; Tel.: 623-21-69); Juan Pablo Pardo Vázquez (pardov@servidor.unam.mx; Tel.: 623-25-10); Sara Morales López (saramolo@servidor.unam.mx; Tel.: 623-24-08); Federico Martínez Montes (fedem@servidor.unam.mx; Tel: 623-21-68), o en la Administración del Departamento al Tel. 623-21-70. La información actualizada de este Taller se puede consultar en la página de internet del Departamento a la siguiente dirección: http://www.laguna.fmedic.unam.mx. El costo de la inscripción es de \$250.00 antes del 30 junio, y de \$300 después de esta fecha.

Habrá un límite de medias becas para estudiantes con comprobante.

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

- 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.
- 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 AL, Nelson DLy Cox MM (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.

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

II.OTRASCOMUNICACIONES

- 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.
- El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de una manera explícita:
- 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 98 Vol 17 Núm 1 Marzo de 1998

CONTENIDO

EDITORIAL	OTRAS COMUNICACIONES
EL BEB Y EL DEPARTAMENTO DE	ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DEL RECEPTOR
BIOQUÍMICA DE LA FACULTAD	A PROTEÍNAS MODIFICADAS, RECEPTOR
DE MEDICINA DE LA UNAM	"BASURERO" O "SCAVENGER"
El Comité Editorial del BEB1	Jaime Mas Oliva 31
ARTÍCULOS	DISCURSO DEL DR ADOLFO GARCÍA
	SÁINZ AL RECIBIR EL PREMIO NACIONAL
PROTEÍNAS INSECTICIDAS	DE CIENCIAS Y ARTES 1997 33
DE Bacillus thuringiensis	
J Eleazar Barboza Corona y Jorge E Ibarra 3	ASOCIACIÓN MEXICANA DE
*	PROFESORES DE BIOQUÍMICA, AC
EL USO DE 1-ANILINO-8	VI CONGRESO 35
NAFTALENOSULFONATO (ANS), PARA	
LA IDENTIFICACIÓN DE	CONVOCATORIAS
INTERMEDIARIOS EN LA RUTA DE	
PLEGAMIENTO DE PROTEÍNAS	REGISTRO DE CANDIDATOS PARA
GLOBULARES	OCUPAR LA PRESIDENCIA DE LA
María Elena Chánez Cárdenas11	ASOCIACIÓN MEXICANA DE
	PROFESORES DE BIOQUÍMICA, AC 38
EL ESTRÉS OXIDATIVO EN LA	
PATOGENIA DE LA ATEROSCLEROSIS	ACTUALIZACIÓN DE MEMBRESÍA A
Ela M Céspedes Miranda, Reinaldo E	LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE
Arencibia Dávila, Félix Broche Valle y	PROFESORES DE BIOQUÍMICA, AC 39
José C García Piñeiro18	MANUELLED DE LOSSILLES CAÉSA
APROXIMACIÓN A LOS FRACTALES	XXV TALLER DE ACTUALIZACIÓN
Y LA TEORÍA DEL CAOS.	BIOQUÍMICA 41
LA FISIOLOGÍA HUMANA Y LA	INCEDITOCIONES DADA LOS
EVOLUCIÓN CELULAR	INSTRUCCIONES PARA LOS
	COLABORADORES DEL BOLETÍN
Jorge Joel Reyes Méndez23	DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA42