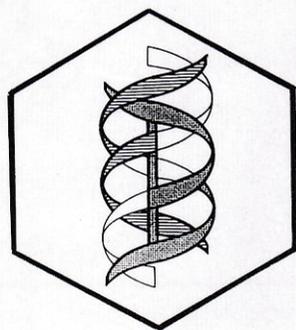


# BEB 98

---

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"

### JESÚS MANUEL LEÓN CÁZARES

Facultad de Ciencias Naturales  
Universidad Autónoma de Querétaro

### JAIME MAS OLIVA

Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México

### FERNANDO MONTEL 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

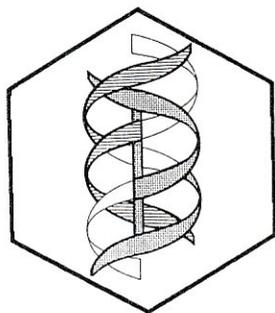
Facultad de Ciencias Naturales  
Universidad Autónoma de Querétaro

### ARACELI FLORIDO SEGOVIANO

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados  
Instituto Politécnico Nacional

### ELISA MORA

Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México



Asociación Mexicana de  
Profesores de Bioquímica, AC

Departamento de Bioquímica,  
Facultad de Medicina,  
UNAM



Facultad de Medicina,  
UNAM

**BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (BEB)**, publicación trimestral de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, AC. Correspondencia: Comité Editorial, Apartado Postal 70-291, 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** (Índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias). Impresa en los talleres Editorial Uno, SA de CV, 1er Retorno de Correggio No 12, México 03720 DF; tiraje 1,300 ejemplares. Distribuidor: Servicio Postal Mexicano, Reg No PP-PROV-DF-119-95; UNAM-Depto de Bioquímica y Facultad de Medicina.

# EDITORIAL

## LA ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA EN HUMANOS

Recientemente, en un programa de radio en donde explicaba sobre los mecanismos bioquímicos de defensa que contra la toxicidad del plomo desarrollan los niños expuestos crónicamente a este metal, el tema fue desviado por alguien del público que preguntó ¿Es ético hacer experimentos con niños? Contesté que en este caso no se trataba de experimentación y que en esta fase del trabajo nos dedicábamos a conocer el estado de diversas funciones de las células y a investigar algunos mecanismos moleculares que varían como respuesta del organismo a la agresión, lo cual puede llevar al organismo a un estado de enfermedad o de resistencia.

Después de mi respuesta llegaron varias llamadas preguntando sobre la validez de los experimentos en humanos e incluso alguien comentó sobre la posibilidad de que en el país se tratara de crear niños resistentes a la contaminación para que pudieran vivir en la Ciudad de México, comentario irónico que implicaba cierto grado de conocimiento. Sin embargo, también se hicieron comentarios de preocupación en torno a que en los hospitales se les tomaran muestras de sangre a los pacientes para venderla o si se estaban haciendo experimentos infectando con el virus del SIDA o que si en los hospitales de seguridad social se estaba esterilizando con vacunas. Hice algunos comentarios sobre estas ideas erróneas y terminé externando mi preocupación sobre la impresión del público sobre la investigación científica y la ética de los profesionales de la medicina y la investigación.

Los medios de comunicación nos informan, cada vez con mayor frecuencia, de nuevos experimentos de clonación en diferentes especies de animales, del viagra como medicamento para curar la impotencia sexual masculina, de

experimentos en el espacio y de avances en el tratamiento de la diabetes, del SIDA o del cáncer, entre muchas otras noticias emitidas del mundo científico. Sin embargo, mucha de esta información no está correctamente orientada, ni suficientemente digerida, por lo que o resulta insuficiente para realmente entender el concepto o provoca una idea errónea en la persona que lo escucha.

Lo anterior, aunado a la baja cultura científica que padece la mayor parte de nuestra población y el interés amarillista de los encargados de los medios de comunicación, agudiza el problema de interpretación al que nos enfrentamos respecto a las noticias de carácter científico, que por su naturaleza requieren de una mayor precisión. Es fácil pensar que como se muestra en varias películas, se puede desarrollar una vacuna en sólo unas cuantas horas, o generar un nuevo ser clonado de unas cuantas células en unos cuantos minutos o desarrollar un tratamiento con una computadora y algunos utensilios de cocina o conocer todo de una persona por una gota de sangre; y si bien algunas de estas visiones futuristas podrán cristalizarse alguna día, no es posible pensar que otras se realicen ni con el desarrollo más avanzado de la ciencia y la tecnología que conocemos. El manejo de la información y el planteamiento que se hace de estas noticias hace pensar que la investigación y el desarrollo tecnológico son muy simples, sencillos, sin riesgos y con potenciales infinitos. Además, se deja ver que el científico puede orientar sus conocimientos casi indiscriminadamente a cualquier empleo y que casi siempre lo hace para obtener algún beneficio material. Nada más lejano a la realidad.

Con los factores antes mencionados no es raro que muchas veces sea mal interpretada la

investigación y mucho más la investigación en humanos. Es fácil hacer un juicio a la ligera y pensar que la investigación en humanos es, a todas luces, falta de ética y que no respeta los preceptos básicos de los derechos humanos.

La investigación científica como método para obtener y poner a prueba los conocimientos y la ciencia que sistematiza, organiza y permite la aplicación de los conocimientos en diferentes disciplinas científicas y tecnológicas no son por si mismas éticamente cuestionables y son, en ultima instancia, los propios humanos los que pueden alterar éticamente las metodología aplicadas para obtener los conocimientos y el empleo de los conocimientos adquiridos.

La investigación nuclear puede ayudar a curar enfermedades, producir energía y explorar el espacio, pero también puede destruir a miles de seres humanos en unos segundos cuando se emplea para generar una bomba. De igual manera la investigación en microbiología permite obtener pruebas diagnósticas, nuevos antibióticos y vacunas o puede emplearse en la guerra bacteriológica; lo mismo ocurre con la investigación en materiales, en superconductores, la investigación farmacología, la investigación en bioquímica, en genética, en biología molecular, en biología celular, en patología, en fin, en cualquier disciplina. Al final de cuentas la aplicación de los resultados de la investigación es una decisión de la propia humanidad.

Es cierto que existen múltiples ejemplos del uso inadecuado de los conocimientos científicos, lo cual se compensa, aunque no se justifica, con una gran cantidad de conocimientos aplicados correctamente que incrementan nuestro entendimiento y control de la naturaleza y del universo y mejoran nuestro nivel de vida con satisfactores que ahora parecen ahogarnos con sus consecuencias. Seguramente, no sabríamos vivir sin las comodidades de las que actualmente gozamos, aun cuando todos quisiéramos que se hubieran alcanzado sin afectar los diferentes equilibrios del planeta que ahora, con los propios conocimientos científicos, hemos sido capaces de detectar, analizar y que tendremos que emplear para tratar de resolverlos.

Del mismo modo como la generación de un satisfactor puede provocar un daño al ambiente, también se puede generar una alteración o un daño a los equilibrios naturales cuando se modifica un organismo o un microorganismo, aun cuando la finalidad no sea provocar el daño. Lo anterior provoca una amplia discusión sobre la ética de este tipo de investigación sobre todo cuando se trata de humanos.

Aun cuando se ha logrado un gran avance en la investigación de la bioquímica y la fisiología humana, el conocimiento de los mecanismos de regulación metabólica y neuro-hormonal aun siguen siendo escasos, lo cual no permite hacer las predicciones correctas o con cierto grado de certeza de los efectos que a largo plazo tienen muchos fármacos y mucho menos la respuesta del organismo al introducir una molécula o al causar una alteración en alguna molécula, en alguna célula o en algún órgano. Este grado de incertidumbre indica que debemos tomar con mucha reserva la investigación en estas áreas, pero esta reserva no puede paralizar la investigación, la debe de hacer mas responsable y pedir que se avance a pasos firmes, sólidos y con la mayor certeza posible. Por supuesto que se podrán cometer errores, los cuales muchas veces nos enseñaran mas que los aciertos, como sucede en todas las áreas de la investigación científica.

La preocupación de la ética en la experimentación en humanos ha acompañado a los científicos de todos los tiempos, por lo cual la historia de la ciencia esta llena de investigadores que se aplicaron o tomaron muestras de sus propios tejidos para realizar estudios diagnósticos o estudiar fármacos o vacunas. Sin embargo, la sistematización de la ciencia obliga a establecer una serie de protocolos de investigación que asegure que se cumple éticamente con la experimentación.

Actualmente se estudian enfermedades y se prueban fármacos o medidas preventivas o terapéuticas diversas en pacientes con enfermedades avanzadas o terminales o con enfermedades que en el momento de la investigación se consideran incurables. Sin

embargo, aun cuando no se puede predecir el efecto que tendrá el tratamiento, en estos casos parece justificada la investigación, ya que el riesgo de la enfermedad es muy alto.

Si lo anterior parecería estar éticamente justificado la investigación de enfermedades no terminales y con un tratamiento ya establecido impone otros problemas éticos, que pueden rebasar a la parte científica y estar fuertemente influenciadas por factores económicos, comerciales y hasta políticos. De tal manera que parecería razonable la pregunta ¿Para qué poner en riesgo al paciente si ya tenemos un tratamiento? Sin embargo, debemos decir que sí, que el avance de la ciencia implica muchas veces probar nuevas formas de tratamiento, nuevas alternativas que permitan no solo entender las enfermedades, la bioquímica y la fisiología del organismo humano sino también mejorar la terapéutica, reducir los efectos secundarios y hacer procedimientos terapéuticos mas eficientes y específicos, pasando por encima de otros intereses que son en ultima instancia propios de la actividad humana y no responsabilidad de la ciencia y la investigación.

Otro problema al que se enfrenta la ética de la investigación en humanos es la de los pacientes controles o de referencia. Muchas veces se requiere de pacientes sanos para entender un mecanismo bioquímico o fisiológico particular o profundizar en un problema diagnóstico o terapéutico. Cuando el riesgo de la metodología diagnóstica o terapéutica no es muy alto, puede ser valido el empleo de voluntarios sanos, siempre y cuando estén plenamente informados de su participación en la investigación.

Sin embargo, cuando existe un riesgo mayor la situación se complica. En ocasiones, cuando la investigación lo permite, el mismo paciente puede ser su control, antes y después del procedimiento diagnóstico o terapéutico. Cuando ésto no es posible el científico tiene que estudiar modelos alternativos, cultivos de células y tejidos, animales de experimentación y una serie de recursos que junto con el razonamiento analógico y múltiples aproximaciones le permiten obtener algunas conclusiones que hacen avanzar a la ciencia.

Cuando se prueba un procedimiento terapéutico, tenemos otro problema ¿Con quién se prueba el nuevo procedimiento que los antecedentes teóricos y experimentales indican que debe ser mas eficiente y podría permitir cambiar la evolución de la enfermedad? y ¿A quién continuamos con un tratamiento previo o, peor aún, a quien se le administra un placebo, ésto es, a que paciente con una enfermedad manifiesta se le administra un compuesto inerte para la enfermedad que padece?. Cuando el riesgo de dejar al paciente sin tratamiento o con el tratamiento previo por el tiempo de experimentación es bajo el problema es mas que nada estadístico y se resuelve con múltiples métodos; sin embargo, cuando se trata de un riesgo mayor el paciente debe de estar enterado que podría caer en cualquiera de los posibles grupos y cuando el riesgo es muy grande no se pueden usar pacientes tratados con placebos. Cuando el tratamiento experimental resulta ser mas eficaz o menos eficaz los pacientes de los diferentes grupos deberán ser informados y finalmente tratados con el mejor tratamiento, todo ello aún con los problemas experimentales que ésto acarrea, teniendo como prioridad el tratamiento del paciente mas que el desarrollo de la investigación.

Todo lo anterior debe de ir acompañado, evidentemente, de una información amplia del procedimiento experimental al que es sometido el paciente, sea diagnóstico o terapéutico, asegurar la confidencialidad de los resultados y permitir la libertad del paciente de abandonar la investigación en el momento que lo considere pertinente.

Pero ¿Quien garantiza toda la ética en la experimentación? En primer lugar la propia ética del investigador y la de la institución donde se realiza. Pero además, existen comités y autoridades civiles y penales que deben garantizar que el paciente será respetado en sus derechos humanos mas elementales y que su voluntad, privacidad y seguridad deberan ser prioridades. Además, el rigorismo de la ciencia y del método científico obliga a los investigadores a cuidar los diferentes puntos éticos y la comunidad científica es también un guardián

silencioso, dado que no aceptaría los resultados que se obtengan con dudosa ética. Actualmente se pone atención hasta en como se realiza la experimentación en animales, cuidando la justificación y la forma de la toma de muestras y la de sacrificio.

Claro está que la investigación no está exenta de problemas, hay mucha charlatanería, la que es posible identificar por los antecedentes profesionales de quien la practica y las instituciones que la respalda. Ese es un problema social independiente de la ciencia pero que la afecta en su imagen, aun cuando nada tienen que ver estos charlatanes con las bondades de la ciencia.

También existen los problemas involuntarios aun con una correcta y ética aplicación del método científico, los cuales derivan, como ya mencionamos, del desconocimiento de muchas de las variables que existen en un organismo tan complejo, riesgos que siempre se tratan de calcular y evitar, lo cual no siempre se logra, aunque cada vez se tratan de controlar mas y mejor.

El resto de los problemas derivan del uso de los conocimientos y de la orientación que se les da a los mismos, lo cual es independiente de la investigación, escapan al control de la comunidad científica y trascienden a toda regulación propia de la investigación científica.

Por supuesto que es fácil sentirse afectado cuando pensamos que algún familiar se está sometiendo a un protocolo de investigación diagnóstica o terapéutica y pensamos que cualquier muestra de sangre será empleada para realizar experimentos malévolos o que la evolución de una enfermedad, que no pudo ser controlada con un tratamiento determinado, es el

resultado de una mala investigación y no que fue el resultado de la evolución natural de la enfermedad que no pudo ser modificada ni con todos los esfuerzos de la ciencia y la tecnología que se tienen hasta el momento. Y esta no es una justificación para los múltiples ejemplos de negligencia o incapacidad médica e institucional, lo cual debe de ser atacada con sanciones severas cuando las faltas son demostradas.

En conclusión no debemos pensar que no existe una ética en la investigación científica y en la experimentación en humanos; ésta existe y se ejerce todo el tiempo, existen problemas que tratan de atacarse y de controlarse. Sin embargo, no se puede renunciar al avance de la investigación científica y lo que debe de hacerse es exigir el incremento de los sistemas de control. De esta manera, la próxima vez que revisemos una noticia científica de experimentación en humanos, no debemos de pensar en un grupo de gente que con ideas incoherentes tratan de lograr un Frankenstein o de dañar al paciente por un beneficio económico, sino en un grupo de gente muy seria que quieren obtener los conocimientos necesarios para mejorar nuestro nivel de vida, controlar, evitar o curar enfermedades, entender paso a paso la naturaleza y el funcionamiento bioquímico y fisiológico de nuestro organismo, para nuestro beneficio y pensando en cada uno de nosotros, aunque la mayoría de ellos solo agregara algunos granos de arena a la impresionante columna de conocimientos que debe de elevarse. Pero ese granito de arena servirá para mejorar nuestro nivel de vida.

José Víctor Calderón Salinas  
Departamento de Bioquímica  
Centro de Investigación y de Estudios  
Avanzados, IPN

# APOPTOSIS Y MUERTE CELULAR PROGRAMADA

Erika Olivia Gómez González, Alejandro Zentella, Departamento de Biología Celular, Instituto de Fisiología Celular, UNAM México 04510, D.F.

## RESUMEN

Actualmente, la muerte celular que ocurre bajo condiciones fisiológicas es considerada como un fenómeno importante para lograr un desarrollo embrionario normal y mantener la homeostasis de tejidos y órganos del estado adulto. Este proceso de muerte está bajo control genético de manera semejante a los procesos de proliferación y diferenciación celular y, al igual que estos otros procesos, este tipo de muerte celular se presenta de manera predecible a lo largo del desarrollo. El hecho de que la muerte celular esté bajo el control de un programa genético específico, implica que la célula tiene una participación activa en su destrucción. Dadas las características morfológicas y bioquímicas de este tipo de muerte, se ha acuñado el término de apoptosis para distinguirlo de la muerte celular por necrosis. Los genes que controlan la muerte celular programada muestran un alto grado de conservación en diversos animales, comenzando con los nemátodos hasta llegar a los vertebrados superiores, lo que sugiere que este proceso apareció con el surgimiento de los animales multicelulares más primitivos. En este trabajo se revisan algunas de las características más sobresalientes de este proceso de muerte celular, a poco más de 25 años de su definición inicial.

**PALABRAS CLAVE:** Factor de necrosis tumoral, APO/FAS, caspasas, crmA, Bcl-2, fragmentación internucleosomal del ADN

## ABSTRACT

The process of cell death under physiological conditions has been recognized as an important phenomenon for a normal embryonic development and maintenance of tissue and organ homeostasis in the adult. This type of death is under genetic control, and similar to the processes of cell proliferation and differentiation, the site and moment of

appearance of cell death is a predictable event during development. The fact that cell death is under the control of a genetic program implies that cells play an active role in their own destruction. Given the morphological and biochemical characteristics of this type of cell death, the term apoptosis was coined to differentiate this process from necrosis. The genes that control cell death are conserved among nematodes and higher vertebrates, suggesting that this process arose with the appearance of primitive multicellular animals. Here we review some of the most relevant characteristics of this type of cell death, close to 25 years after its first definition.

**KEY WORDS:** Tumor necrosis factor, APO/FAS, caspases, crmA, Bcl-2, internucleosomal DNA fragmentation

## INTRODUCCIÓN

En 1972 Kerr, Wyllie y Currie, estudiando sistemas experimentales de roedores señalaron que las características morfológicas de las muertes celulares que ocurren de manera natural durante el desarrollo embrionario, la regeneración hepática y el balance entre proliferación y muerte en modelos de tumores in vivo en sistemas experimentales de roedores, son diferentes a las que presenta la muerte que ocurre como resultado de patologías o intoxicación (1). Por sugerencia de un colega del departamento de literatura, partieron de la palabra griega "αποπτωση" (que describe la caída de las hojas o el marchitar de una flor) y acuñaron el término de "apoptosis" para describir este fenómeno, al que también se ha comparado a un "suicidio" celular. Si bien la muerte celular durante el desarrollo embrionario ya había sido descrita anteriormente, la contribución de Kerr, Wyllie y Currie, consistió en proponer que en este proceso las células destinadas a morir, participan activamente en su muerte y que este proceso es determinante en el mantenimiento de la constitución celular de los tejidos. Otros estudios sobre la muerte neuronal durante la formación de sinapsis funcionales y sobre la muerte de células precursoras de células B y T autorreac-

**NOTA:** De acuerdo a las normas internacionales de nomenclatura los genes se escriben con minúscula en letra cursiva (*bcl-2*), mientras que las proteínas codificadas por estos genes se escriben con un tipo regular y comienzan con mayúscula (Bcl-2).

tivas durante la selección negativa pusieron de manifiesto la importancia de la muerte celular como mecanismo fisiológico de selección (2). Posteriormente, estudios genéticos con el nemátodo *Caenorhabditis elegans*, demostraron la existencia de genes cuya expresión controla la muerte apoptótica (3), entre los que se identificó al gen *ced-9* y por similitud en la secuencia a su homólogo en humanos, el gen *bcl-2*, cuya expresión resultó interferir con la muerte de neuronas privadas de factores neurotróficos así como con la muerte de células precursoras de los B y T (2,4,5,6).

La evidencia acumulada hasta ahora, sugiere que la gran mayoría de las células animales son capaces de seguir esta vía de muerte, aún aquellas en las que normalmente no se activa el programa de muerte. Este hallazgo implica que este programa genético de autodestrucción forma parte del repertorio de respuestas celulares a señales externas o a cambios en las condiciones celulares internas (2,7).

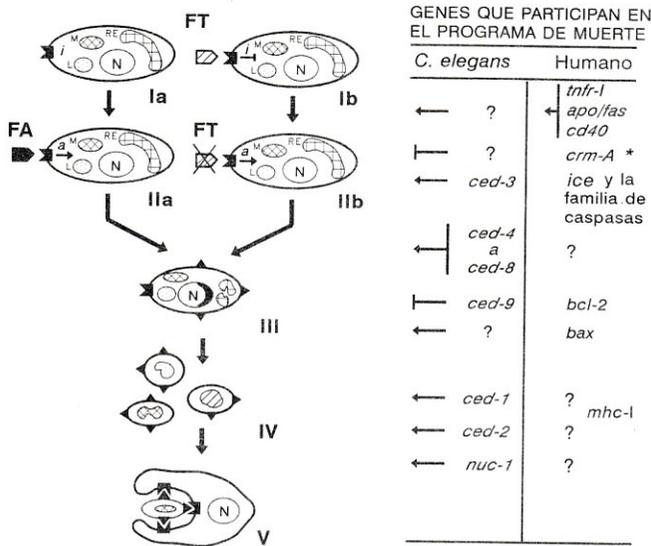
A lo largo de esta revisión se emplean los términos de muerte celular programada y muerte por apoptosis, que si bien en la literatura parecen emplearse como sinónimos, poseen significados diferentes. Muerte celular programada, se refiere al proceso de decisión que lleva a la autodestrucción de la célula, mientras que muerte por apoptosis es un término descriptivo que se refiere a los procesos bioquímicos y a los cambios morfológicos que ocurren durante la muerte celular que resultan de la activación del programa de muerte (1,7,8).

### **APOPTOSIS VERSUS NECROSIS**

Los procesos bioquímicos y macromoleculares que ocurren durante la muerte por apoptosis, son claramente diferentes de los que acompañan a la muerte por necrosis. En la Figura 1 se esquematizan algunas de las características de la muerte apoptótica. Uno de los primeros cambios morfológicos que presentan las células que inician el proceso apoptótico consiste en una condensación del citoplasma y reducción del volumen celular, acompañado de cambios en la estructura del núcleo (paso III de la Fig. 1). La cromatina se condensa y forma cúmulos densos adosados a la membrana nuclear; esto es seguido de invaginaciones de la membrana nuclear y termina con la fragmentación del núcleo en estructuras membranosas con cantidades variables de cromatina. De manera análoga, la mem-

brana celular sufre invaginaciones que terminan por fragmentar a la célula formando racimos de vesículas de tamaño variable que contienen orgánulos intactos que no se fusionan con lisosomas (paso IV de la Fig. 1). A estas vesículas se les denomina cuerpos apoptóticos. In vitro, los cuerpos apoptóticos terminan por desintegrarse, pero in vivo, éstos son rápidamente fagocitados por células vecinas (paso V de la Fig. 1). Por tanto, una de las consecuencias fisiológicas más relevantes de la muerte por apoptosis, es que no se libera material intracelular al medio intersticial. Es importante destacar que este tipo de muerte está restringida a células individuales y nunca resulta en la muerte de células vecinas en las que no se haya activado el programa de muerte (2,7,8).

Por otra parte, la muerte celular por necrosis afecta no sólo a la célula que muere, sino también a muchas células adyacentes. Al igual que durante la muerte por apoptosis, también hay agregaciones de la cromatina nuclear, responsables de un obscurecimiento del núcleo o "picnosis", que sin embargo, es menos denso y menos homogéneo que lo que se puede observar durante la muerte por apoptosis. En ocasiones también puede observarse fragmentación nuclear. A diferencia de la apoptosis, durante la necrosis los orgánulos se hinchan y el volumen celular aumenta considerablemente. Estos cambios han sido asociados con alteraciones en el control osmótico, que resulta de una depleción de ATP y la consecuente disfunción de los transportadores iónicos de membrana, como la ATPasa de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ . Todo esto lleva a una pérdida del potencial de membrana y a un incremento en la permeabilidad membranal. Finalmente, las membranas de los orgánulos celulares se fusionan y se pierde la integridad de la membrana celular, permitiendo que el contenido citoplasmático se vacíe al espacio intersticial (9). La muerte por necrosis generalmente va acompañada de una respuesta inflamatoria, seguida de un proceso de cicatrización que en ocasiones se asocia al desarrollo de fibrosis. Un claro ejemplo de este tipo de muerte, es la destrucción tisular hepática como consecuencia de la cirrosis o de la hepatitis. A diferencia de la apoptosis, ninguno de estos cambios está determinado genéticamente y resulta, más bien, de la pérdida de sincronización funcional entre los procesos bioquímicos y las estructuras macromoleculares que constituyen a la célula.



**Figura 1** Relación entre cambios morfológicos durante la apoptosis y los genes que participan en el programa de muerte celular. Representación esquemática de la secuencia de pasos que llevan a la muerte por apoptosis en el panel de la izquierda. En células tumorales o infectadas por virus (**Ia**) el programa de muerte se encuentra inactivo (*i*). Cuando la señal de muerte aparece en forma de un factor apoptótico soluble (FA) el programa se activa (*a*), en respuesta a la activación de receptores específicos de membrana, como: el receptor tipo I de TNF, el receptor APO/FAS o el receptor CD40 (**Ia**). Por el contrario, en neuronas dependientes de factor de crecimiento neural o linfocitos dependientes de interleucina 3 (**Ib**) el programa de muerte se encuentra permanentemente encendido (*a*). La presencia de estos factores tróficos (FT) inactiva (*i*) temporalmente al programa. Sin embargo, el programa se activa (*a*) cuando los factores tróficos desaparecen del medio (**Ib**). Las primeras muestras de deterioro son una reducción del volumen celular, alteraciones en la morfología de los orgánulos y marginación de la cromatina en el núcleo (**III**). La célula se fragmenta en vesículas denominadas cuerpos apoptóticos, sin que haya salida del citoplasma al medio intersticial (**IV**). Los cuerpos apoptóticos son fagocitados por macrófagos residentes y células vecinas por reconocimiento de fosfatidilserina y antígenos de superficie que se asocian a receptores asociados al complejo I del sistema de histocompatibilidad (**V**). Los orgánulos celulares se encuentran representados de la siguiente manera: M, mitocondrias; L, lisosomas; RE, retículo endoplásmico; N, núcleo. Genes que participan en el programa de muerte celular del nemátodo *Caenorhabditis elegans* y sus homólogos en humano en el panel de la derecha. Las flechas (←) representan a aquellos genes cuya función favorece el proceso de muerte celular; la línea truncada (—) representa una función antagónica al proceso de muerte. El asterisco (\*) representa la posición del gen *crm-A*, un gen de origen viral que interrumpe el programa de muerte neutralizando la acción de *Ice*. Los signos de interrogación (?) representan a aquellos genes para los que aún no se ha identificado un gen homólogo. En mamíferos se han identificado receptores que activan el programa de muerte, como el receptor al factor de necrosis tumoral (*tnfr*) o el receptor APO-FAS (*apo-fas*).

La Tabla I resume las características más sobresalientes que distinguen a la muerte celular por apoptosis de aquella que ocurre por necrosis (9).

TABLA I

DIFERENCIAS ENTRE NECROSIS Y APOPTOSIS		
CARACTERÍSTICA	NECROSIS	APOPTOSIS
<b>Participación Celular</b>	Pasiva, carente de control genético	Activa, controlada por un programa genético
<b>Volumen Celular</b>	Aumenta	Se reduce
<b>Cromatina Nuclear</b>	Condensación laxa y localización difusa	Condensación compacta con marginación nuclear
<b>Núcleo</b>	Fragmentado	Fragmentado
<b>ADN</b>	Fragmentación irregular, patrón de barrido	Fragmentación internucleosomal, patrón de escalera
<b>ARN ribosomal</b>	Degradación irregular	Fragmentación regular aparición de bandas específicas
<b>Orgánulos</b>	Se hinchan y tienden a fusionarse con lisosomas	Permanecen íntegros y no se fusionan con lisosomas
<b>Membrana Celular</b>	Conserva asimetría de fosfolípidos y se pierde la integridad	Aparición de fosfatidilserina en la lámina extracelular y se conserva la impermeabilidad
<b>Citoesqueleto</b>	Se desorganiza	Conserva estructura
<b>Citoplasma</b>	Se vierte al espacio intersticial	Se conserva de los cuerpos apoptóticos
<b>Activación de Proteasas</b>	Inespecífica y asociada a disfunción lisosomal	Específica de la familia de las caspasa
<b>Estrés Oxidativo</b>	Presente sólo en etapas tardías	Presente desde etapas tempranas
<b>Catabolismo Lipídico</b>	Activación inespecífica de fosfolipasas	Producción de ácido araquidónico y metabolitos derivados. Producción de ceramida y metabolitos derivados
<b>Reacción Inflamatoria</b>	Presente	Ausente
<b>Cicatrización</b>	Presente, a menudo con fibrosis	Ausente

**LA MUERTE APOPTÓTICA NO EVOCA UNA RESPUESTA INFLAMATORIA**

Una de las características de mayor relevancia fisiológica de la muerte por apoptosis, radica en el hecho de que no induce una respuesta inflamatoria (1,2,7,8,9). Cuando una célula muere por necrosis, su contenido citoplásmico se vierte al medio intersticial exponiendo un gran número de antígenos que el sistema inmune reconoce como ajenos, frente a los cuales reacciona tratando de eliminarlos.

Durante este proceso se activan varios componentes celulares del sistema inmune, como los macrófagos y los neutrófilos que liberan  $H_2O_2$  dañando a cualquier célula con la que entran en contacto. El resultado es la destrucción de muchas células del tejido circundante.

Hay que resaltar que la formación de los cuerpos apoptóticos previene que el contenido citoplasmático pueda ser liberado al medio intersticial. Antes de que los cuerpos apoptóticos se desintegren, estos son fagocitados por células vecinas en un proceso en el que participan antígenos de superficie y fosfatidilserina que sólo en estas circunstancias se presenta en la lámina externa de la membrana celular de los cuerpos apoptóticos (9). Estas moléculas son reconocidas por receptores específicos en colaboración con los antígenos del sistema de histocompatibilidad mayor. La compartimentalización del contenido de la célula apoptótica previene que los antígenos intracelulares puedan evocar una reacción autoinmune. Esta característica de la muerte celular por apoptosis es responsable de que no se produzca una respuesta inflamatoria durante la remodelación y reabsorción tisular aún cuando éstas implican la desaparición de tejidos y órganos completos, como durante la metamorfosis de insectos (10) y anfibios o la reabsorción de los conductos müllerianos embrionarios en machos de vertebrados o del mesonefros en hembras (7).

### LA FRAGMENTACIÓN INTERNUCLEOSOMAL

Durante la muerte por necrosis el ADN se degrada por acción de endonucleasas y exonucleasas, y los nucleosomas parecen perder integridad ya que al separarse por electroforesis en geles de agarosa se observa un barrido sin que aparezcan bandas discretas (Fig. 2A). Esto refleja que en la muerte por necrosis el ADN se corta en fragmentos de una gran variedad de tamaños (Fig. 2C). Por el contrario, una característica que hasta ahora se considera exclusiva de la muerte apoptótica, es la degradación internucleosomal de ADN, de manera tal que al someterse a una separación por electroforesis en un gel de agarosa, se advierte un patrón de bandas discretas característico al que se denomina patrón de escalera (Fig. 2B). Este patrón revela que durante la muerte por apoptosis los fragmentos producidos son múltiplos de 180 bases, correspon-

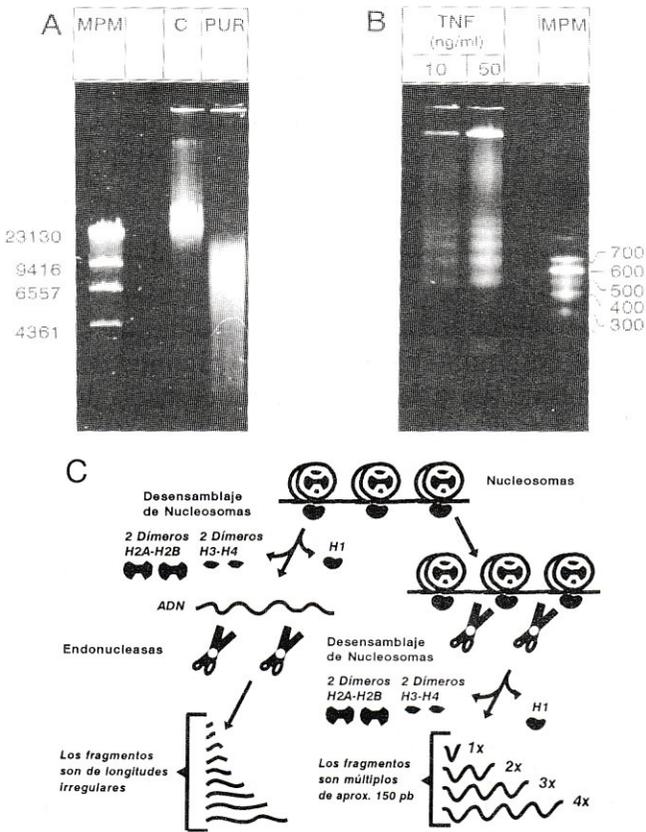
diente a la longitud del ADN que se enrolla alrededor de cada nucleosoma. Los nucleosomas, constituidos por un núcleo de histonas rodeados por dos asas de ADN, son elementos estructurales de la cromatina (Fig. 2C). Durante la muerte por apoptosis la activación de proteasas específicas promueve la degradación de proteínas de los filamentos intermedios de la matriz nuclear como la lámina A y la lámina B. Se cree que ya que la cromatina se encuentra adosada a estos filamentos, la fragmentación de estas proteínas de la matriz nuclear promueve la desorganización de la cromatina (2,7,11). La subsecuente activación de endonucleasas que tienen acceso a las regiones de ADN entre cada nucleosoma hidroliza el ADN produciendo fragmentos cuya longitud es un múltiplo del número de bases enrolladas en un nucleosoma (Fig. 2C).

Las endonucleasas que participan en la producción de fragmentos internucleosomales, son dependientes de calcio ( $Ca^{+2}$ ), ya que la presencia de quelantes de  $Ca^{+2}$  como el EGTA, interfieren con la aparición de este patrón de degradación del ADN (11).

Si bien la fragmentación de ADN se considera como un elemento diagnóstico de una muerte celular por apoptosis (2,7), su ausencia no es necesariamente prueba de que no se trata de una muerte apoptótica. Por una parte es posible que el proceso ocurra rápidamente de paso hacia la hidrólisis completa del ADN. Por otra parte, es importante considerar que las células no mueren de manera sincrónica y que por tanto en un momento dado, esta fragmentación puede estar presente sólo en una pequeña fracción de la población celular bajo estudio. Los escenarios mencionados explicarían porqué documentar la fragmentación internucleosomal puede ser más difícil de lo que inicialmente podría pensarse.

### ACTIVACIÓN E INACTIVACIÓN DEL PROGRAMA DE MUERTE

La muerte celular programada es un mecanismo de selección en el que las condiciones microambientales que rodean a la célula determinan cuales células han de morir y el momento en el que esto debe ocurrir. El estudio de distintos sistemas celulares en los que ocurre la muerte apoptótica sugiere que existen dos formas de activación del programa de



**Figura 2.** Patrones electroforéticos del ADN durante la muerte por necrosis o por apoptosis. **A)** Patrón electroforético del ADN de un cultivo celular control (primer carril) o proveniente de células muertas por tratamiento con puromicina (PURO), un patrón similar se observa durante la hipoxia o la falta de nutrientes. MPM: marcadores de peso molecular. **B)** Patrón electroforético que genera la fragmentación internucleosomal de ADN en promielocitos HL-60 tratados con 10 o 50 ng de TNF/ml. MPM: marcadores de peso molecular. En ambos casos (A y B) el ADN fue aislado después de cada tratamiento y separado de acuerdo a sus tamaños por medio de una electroforesis en gels de 1.5 % de agarosa que fueron teñidos con bromuro de etidio para visualizar el ADN. **C)** Esquema que representa cómo el momento en que se desensamblan las histonas que constituyen los nucleosomas determina el tipo de fragmentos generados. La acción de las endonucleasas produce un barrido en el caso de la izquierda (necrosis), mientras que en el de la derecha genera un patrón de escalera (apoptosis).

muerte (2,7,8,13). En algunos tipos celulares el programa de muerte se encuentra apagado, por lo que se requiere de un estímulo externo para activarlo (Fig. 1, esquema Ia). Señales paracrinas pertenecientes al grupo de citocinas, como el TNF o el ligando de APO/FAS, son los ejemplos prototípicos de las señales que al unirse a sus receptores de membrana en las células blanco, activan el programa de muerte (8,14). Existe un creciente número de ligandos y receptores recientemente identifi-

cados con una función similar. Estos sistemas permiten eliminar células dentro de un tejido de forma selectiva. Mientras que el sistema de APO/FAS parece estar asociado con la eliminación de clonas de linfocitos T y B que responden a antígenos propios, el sistema de muerte dependiente de TNF participa en la muerte de células tumorales o de células infectadas con distintos tipos de virus. Sin embargo, la activación del programa no sólo requiere de la presencia de receptores funcionales en la membrana de las células destinadas a morir. Por ejemplo, la muerte mediada por la activación de APO/FAS sólo ocurre durante ciertos estados de maduración de las células progenitoras de linfocitos T o B. En el caso del TNF, los receptores de esta citocina se encuentran presentes en todas las células del cuerpo, pero sólo activan el programa de muerte cuando la transformación hacia una célula tumoral o la infección viral producen un cambio interno en la célula que permite que el programa de muerte tenga efecto.

Además, los ligandos asociados a la inducción de la muerte celular programada no sólo inducen muerte. Por ejemplo, las células endoteliales que recubren el interior de los vasos poseen receptores a TNF y su activación es un paso indispensable para la respuesta inflamatoria. En este caso, la activación de los receptores a TNF, no promueva la muerte celular, sino la activación del endotelio. Sin embargo, si células endoteliales cultivadas in vitro son tratadas con inhibidores de la síntesis de ARN o de proteínas, como actinomicina-D o cicloheximida, el TNF induce muerte por apoptosis. Esta observación pone de manifiesto el hecho de que el TNF enciende el programa de muerte en todas las células a las que estimula, pero que las células expresan activamente productos génicos que las protegen; pero si estos productos no son sintetizados, el programa de muerte sigue su curso y la célula endotelial muere por apoptosis.

El segundo mecanismo de activación del programa de muerte consiste en un encendido constitutivo como parte de las características del estado de maduración o diferenciación de un linaje celular. En estos casos la muerte se previene por acción de factores de sobrevivencia, también denominados factores tróficos, que de estar presentes en el medio interfieren con la ejecución del programa de

muerte (Fig. 1, esquema IIB). Tal es el caso de las neuronas dependientes del factor de crecimiento neural (NGF) o de los timocitos dependientes de interleucina 3 (IL-3). El sistema de NGF participa en la maduración neuronal y durante la selección de sinapsis funcionales en el sistema nervioso (3,5,8), mientras que el sistema de IL-3 es importante durante la maduración hematopoiética (2,8,15).

### PROGRAMA GENÉTICO DE MUERTE CELULAR

Experimentos con inhibidores de la síntesis de ARN y de proteínas mostraron protección de la muerte de timocitos dependientes de IL-3 y de neuronas dependientes de NGF. La exposición a estos factores promueve la sobrevivencia de un mayor número de células y extiende el tiempo de vida de las células con respecto a los cultivos control sin factores. Estas fueron las primeras evidencias indirectas de la existencia de genes cuya expresión participa activamente en el proceso de muerte celular. Estudios sobre la expresión génica durante la muerte de los músculos intercostales de las orugas del lepidóptero *Manduca sexta*, mostraron la existencia de grupos de genes que se expresan de manera específica durante la muerte por apoptosis; de manera complementaria, también se encontraron grupos de genes que se dejan de expresar previo a la muerte de los tejidos (10). La confirmación definitiva de que existen genes cuya expresión ordenada en el tiempo controla el proceso de muerte, vino de los estudios realizados en el nemátodo *Caenorhabditis elegans* (3), en donde sólo mueren células específicas en un momento particular del desarrollo. La mayoría de las muertes celulares en *Caenorhabditis elegans* no son influidas por células vecinas o por la posición que ocupan dentro de estos organismos, lo que sugiere que no existen factores liberados por otras células responsables de activar el programa de muerte y por tanto, que la muerte está determinada genéticamente por el linaje celular. El estudio del control genético de la morfogénesis y la organogénesis de los distintos estadios larvarios y del animal adulto de este nemátodo, resultó ser una poderosa herramienta para el análisis de los genes que participan en el programa de muerte. Una de las ventajas experimentales de este sistema radica en el hecho de que se conoce con precisión absoluta el origen embrionario de cada una de las células del animal

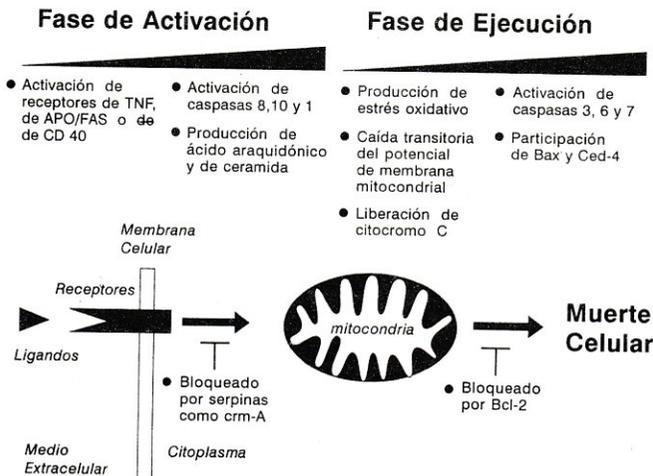
adulto y cuales de las células somáticas de este nemátodo mueren durante el desarrollo. Así por ejemplo, en *Caenorhabditis elegans* mueren 131 células somáticas por apoptosis durante el último estado de desarrollo larvario que da origen al organismo adulto (3).

Estudios de mutagénesis y complementación genética en este organismo, han demostrado la existencia de al menos catorce genes que forman parte del programa de muerte. Algunos de estos comprometen a la célula al proceso de muerte, otros son efectores del programa (como los genes: *ced-3* y *ced-4*), y otros más se requieren para destruir y desechar el cadáver celular (como los genes: *ced-1*, *ced-2*, *ced-5*, *ced-7*, *ced-8*, *ced-10* y *nuc-1*). Como ya hemos mencionado, también se han identificado genes (como *ced-9*), cuya función fisiológica consiste en interferir con la ejecución del programa de muerte (3,7,8,13).

### ICE Y BCL-2, DOS GENES CON FUNCIONES ANTAGÓNICAS DENTRO DEL PROGRAMA DE MUERTE

Si bien en el nemátodo *Caenorhabditis elegans* fue posible identificar varios genes que participan en el programa de muerte, hasta la fecha sólo para los genes *ced-3* y *ced-9* se han identificado genes en mamíferos con secuencias y funciones homólogas (Fig. 3); recientemente la introducción del gen *ced-4* a células de mamíferos ha revelado la posibilidad de que exista un gen con función homóloga, que es esencial en la activación de proteasas durante la fase de ejecución. La posibilidad de que esta proteína tenga una secuencia diferente en nemátodos y mamíferos explicaría por qué, a pesar de múltiples esfuerzos de clonación por hibridación homóloga no se ha encontrado un gen con homología al gen *ced-4*.

En el caso del gen *ced-3*, se encontró que en los organismos que carecen de alelos funcionales de este gen no se presenta la muerte celular, lo que da origen a células que normalmente no están presentes en estos organismos. Sorprendentemente, estas células supernumerarias, que normalmente mueren, resultan ser células funcionales; incluso, capaces de substituir la función de sus hermanas que normalmente no mueren cuando éstas son eliminadas por microcirugía con irradiación de rayos laser.



**Figura 3.** Representación esquemática de las fases de activación y ejecución durante la muerte por apoptosis. La activación de receptores de muerte como el receptor de TNF tipo I, el antígeno APO/FAS o CD40 encienden el programa de muerte. La activación de caspasas en la fase de activación y en la fase de ejecución del programa de muerte amplifican el proceso antes y después de la inducción de cambios en el funcionamiento mitocondrial. Cada fase va acompañada de cambios bioquímicos que participan en la muerte celular, listados bajo cada fase. Los puntos en los que el programa de muerte puede ser bloqueado se representan con líneas truncadas (T).

La clonación y secuenciación del gen *ced-3* reveló una gran homología en secuencia y posteriormente en función con la cisteil proteasa ICE cuya función se asocia a la maduración proteolítica de la interleucina 1 $\beta$  de donde deriva su nombre (interleukin 1 converting enzyme). La posibilidad metodológica de introducir genes de mamíferos en células de *Caenorhabditis elegans* (transfección), permitió introducir el gen que codifica a la enzima ICE de mamíferos a nemátodos genéticamente deficientes del gen *ced-3* (organismos *ced-3*<sup>-</sup>). Estos experimentos demostraron que la expresión de la enzima ICE, puede substituir la función del producto codificado por el gen *ced-3* (complementación genética), permitiendo que vuelva a presentarse la muerte celular por apoptosis en las células correctas en el momento adecuado del desarrollo. Este hallazgo dio pie a la clonación de una larga lista de genes cuya secuencia es homóloga a ICE. Estos genes codifican para endopeptidasas denominadas caspasas, nombre que derivan de su especificidad (cisteil aspartate acid peptidasas); estas enzimas han sido identificadas tanto en el ratón como en el humano.

Por medio de estudios de transfección se ha determinado que la expresión de las caspasa 3,

TABLA II

FAMILIA DE CASPASAS

CASPASA	Otros Nombres	Papel en la muerte por apoptosis		
		Fase de inicio	Fase de activación	Fase de ejecución
8	FLICE/MACHc/ Mch5	+	-	-
1*	ICE	+	-	-
10	MCH4	-	+	-
9	ICE-LAP6//Mch6	-	+	-
3	CPP32/ YAMA/ APOPAINA	-	-	+
6	Mch2	-	-	+
7	ICE-LAP3/MACH3	-	-	+

\* La función fisiológica de la caspasa 1 (ICE) está asociada al procesamiento del precursor de la interleucina 1 $\beta$  (IL-1) para generar la forma biológicamente activa de esta citocina.

6, 7, 8 y 10 es indispensable para la muerte por apoptosis en muchos tipos celulares de mamíferos. La activación de estas proteasas ocurre en dos etapas secuenciales. Las caspasas 8 y 10 (también denominadas FLICE y Mch4 respectivamente) participan en la fase de activación del programa de muerte, y son activadas en respuesta a la ocupación del receptor de TNF tipo I o de APO/FAS. Por otra parte, las caspasas 3, 6, 7 y 9 (también denominadas CPP32, Mch2, ICE-LAP3 y ICE-LAP6 respectivamente) forman parte de la fase de ejecución. Estas caspasas pueden ser activadas como resultado de daño mitocondrial o bien por otros mecanismos independientes de la mitocondria aún no bien caracterizados (Fig. 3).

El estudio de la familia de caspasas ha demostrado que la mayoría de las células expresan estas enzimas en forma de precursores inactivos o zimógenos que pueden ser activados proteolíticamente por miembros de la misma familia, de manera análoga a la cascada de proteasas que participan en la coagulación. La identificación de estas enzimas explica porqué la adición de inhibidores de proteasas puede interferir con la muerte por apoptosis en cultivos de neuronas sin factores neurotróficos o de timocitos sin interleucina 3 (IL-3).

El gene *ced-9* de *Caenorhabditis elegans* interrumpe el programa de muerte, por lo que en organismos que carecen de alelos funcionales de este gen (organismos *ced-9*<sup>-</sup>) mueren muchas más células de lo que ocurre normalmente (3). Una porción de la secuencia del gen *ced-9*, presenta una gran homología con el gen *bcl-2* que se identificó inicialmente como un gen asociado al desarrollo de leucemias granulocíticas de células B, de donde deriva su nombre (B-cell leukemia gene 2). Experimentos de complementación genética utilizando nemátodos genéticamente deficientes de *ced-9* demostraron que *bcl-2* puede substituir la función de *ced-9*.

Estos experimentos llevan implícito el concepto de que los genes que controlan la muerte celular por apoptosis y el programa mismo de muerte, se han conservado a lo largo de la evolución desde los nemátodos, un grupo de animales multicelulares primitivo, hasta los vertebrados superiores. La Tabla III enumera a algunos de los homólogos de Bcl-2 presentes en humanos y los efectos de su expresión sobre el proceso de muerte.

El mecanismo preciso por el cual Bcl-2 interfiere con el programa de muerte, aún se desconoce a pesar de un enorme esfuerzo por comprender su funcionamiento. Sin embargo, se ha podido establecer que su capacidad protectora radica en la posibilidad de formar homodímeros Bcl-2=Bcl-2, ya que versiones de Bcl-2 carentes del dominio de dimerización no tienen actividad antiapoptótica. Sorprendentemente, la sobreexpresión de algunos miembros de la familia de Bcl-2 como la proteína

Bax, promueven la muerte. Un análisis detallado de la secuencia de proteínas como Bax ha demostrado homología parcial con Bcl-2, ya que Bax sólo presenta el dominio de dimerización pero carece de un segundo dominio presente en Bcl-2. La proteína Bax promueve la muerte al interferir con la formación de homodímeros Bcl-2=Bcl-2 en favor de la formación de heterodímeros Bcl-2=Bax que no pueden interferir con la muerte. El estudio comparativo de las estructuras de los demás miembros de la familia y ensayos de interacción proteica in vitro ha demostrado que el efecto protector o inductor de muerte depende de la posibilidad de formar homo o heterodímeros entre ellos. Por tanto, el destino de vida o muerte celular, depende no tanto que se exprese o no alguno de los miembros de la familia de Bcl-2, como del balance entre los miembros de esta familia que promueven la muerte apoptótica y aquellos que la previenen como se ilustra en la Tabla III.

Entre los genes con actividad antiapoptótica también se encuentran algunos genes virales como crmA codificado en el genoma de algunos adenovirus. Los péptidos codificados por estos genes pertenecen al grupo de las serpinas, péptidos que actúan como inhibidores competitivos de las cisteilproteasas ácidas como las caspasas. Otras serpinas se han identificado en virus de otras especies, incluso en virus de insectos como baculovirus. La amplia distribución de estos inhibidores como genes que se expresan en etapas tempranas de la infección viral apoya la hipótesis de que la muerte apoptótica está implicada en la eliminación de células infectadas por virus.

TABLA III

FAMILIA Bcl-2				
MIEMBRO	APOPTOTICO	ANTIAPOPTOTICO	HOMODIMERIZACION	HETERODIMERIZACION
<b>Bcl-2</b>	-	+	muy estable	Bax (muy estable) Bak (estable) Bad (inestable)
<b>Bcl-x<sub>L</sub></b>	-	+	estable	Bax (muy estable) Bak (estable)
<b>Bcl-x<sub>S</sub></b>	+	-	estable	Bcl-2 (estable) Bcl-x <sub>L</sub> (estable)
<b>Bax</b>	+	-	muy estable	Bcl-2 (muy estable)
<b>Bad</b>	+	-	no	Bcl-2 (inestable)
<b>Bak</b>	+	-	muy estable	Bcl-x <sub>L</sub> (estable) Bcl-2 (estable)

## ESTRÉS OXIDATIVO, METABOLISMO DE ESFINGOLÍPIDOS Y DE ÁCIDO ARAQUIDÓNICO Y MUERTE APOPTÓTICA

Además de la activación de la cascada de caspasas, durante la muerte por apoptosis se activan varios procesos bioquímicos que han sido considerados como vías paralelas que conducen a la muerte celular. A la activación de la cascada de caspasas se han asociado alteraciones en el funcionamiento mitocondrial, que incluyen una caída transitoria en el potencial de membrana mitocondrial, la liberación de citocromo C, y la producción de radicales libres. En algunas células estos cambios parecen ser esenciales para la fase de ejecución de la célula. Por una parte, la liberación de citocromo C es un paso indispensable en la activación de una segunda serie de caspasas que en su activación requieren de proteínas como la que es codificada por el gen *ced-4* de *Caenorhabditis elegans*. Por otra parte las alteraciones que permiten la liberación de citocromo C afectan a la cadena respiratoria permitiendo un aumento en la generación de electrones desapareados y por tanto la producción de radicales libres. Este aumento, principalmente de formas reactivas de oxígeno crea un estrés oxidativo inespecífico que lleva al deterioro oxidativo de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, que de por sí puede conducir a la muerte celular. La importancia del estrés oxidativo puede apreciarse por el hecho de que diversos agentes antioxidantes interfieren con la muerte celular. La protección que confiere la expresión del gen *bcl-2* parece deberse a que su producto génico interfiere justo con los eventos de la fase de ejecución que llevan a la activación de caspasas postmitocondriales (Fig. 3).

Además de la activación de la cascada de caspasas y el estrés oxidativo se han identificado otros procesos bioquímicos que contribuyen al mecanismo de muerte celular. Por una parte se activa una esfingomielinasa que hidroliza esfingomielina produciendo ceramida, que actúa como segundo mensajero, capaz de inducir citostasis (arresto de la proliferación celular) o muerte celular por apoptosis, dependiendo del blanco celular. Por otra parte la activación de la fosfolipasa del tipo A2 (PL-A2), en respuesta a estímulos apoptóticos como el TNF, produce un aumento en el metabolismo del ácido araquidónico que ha sido asociado a la muerte celular, posiblemente por la generación

de radicales libres. Si bien se desconoce aún cual o cuales de los metabolitos del ácido araquidónico (prostaglandinas, leucotrienos o tromboxanos) son relevantes para la muerte por apoptosis existen varios reportes que demuestran una clara correlación entre la actividad de PL-A2 y la activación del programa de muerte.

## SIGNIFICADO BIOLÓGICO DE LA APOPTOSIS Y LA MUERTE CELULAR PROGRAMADA

Ya hemos mencionado que la muerte celular programada permite establecer un sistema de selección, eliminando sólo a ciertas células dentro de un tejido. Por una parte, por medio de un sistema de selección negativa, es posible eliminar células potencialmente peligrosas para el organismo como es el caso de células tumorales o infectadas con virus. Por otro lado, mediante un sistema de selección positiva, es posible eliminar células disfuncionales como el caso de neuronas que no lograron establecer sinapsis funcionales, o la eliminación de linfocitos T o B cuya reactividad está dirigida contra antígenos propios del organismo. Adicionalmente se presenta la muerte de tejidos y órganos con funciones obsoletas, o reminiscentes del pasado evolutivo del organismo. Un ejemplo del primer tipo de muerte es la reabsorción de tejidos y órganos durante los pasos de una a otra etapa larvaria o la metamorfosis de insectos y anfibios. Un ejemplo del segundo tipo de muerte está representado por la reabsorción de los conductos mullerianos en los machos o del mesonefros en las hembras durante su desarrollo embrionario. Estos tipos de selección aseguran que los tejidos estén constituidos por células que desempeñan su función de manera óptima.

Los experimentos con los organismos *ced-9*<sup>-</sup> de *Caenorhabditis elegans* ponen de manifiesto que la regulación del programa de muerte constituye una fuente de plasticidad adaptativa, ya que de no morir las células que normalmente están destinadas a hacerlo, es posible que adquieran nuevas funciones antes ausentes. Por tanto la población de células supernumerarias constituye un reservorio adaptativo de gran valor desde el punto de vista evolutivo.

## CONCLUSIÓN

Durante diferentes etapas del desarrollo de los organismos multicelulares complejos ocurre muerte

celular o incluso muerte y reabsorción de tejidos u órganos completos. Se postula que este tipo de muerte celular junto con la proliferación y la diferenciación celular forma parte de los procesos que determina el tamaño, composición celular y función de los diferentes órganos. A este tipo de muerte celular se le denomina apoptosis o muerte celular programada y corresponde a un proceso en el cual las células que mueren juegan un papel activo en su muerte y se distingue de la muerte incidental por hipoxia, envenenamiento o traumatismo (muerte por necrosis), en la que la célula muere como una víctima de las circunstancias. Sin embargo, la principal diferencia fisiológica entre la necrosis y la apoptosis consiste en la ausencia de respuesta inflamatoria en la segunda.

En vista de que la muerte celular está controlada por información genética, este proceso también está sujeto al efecto de mutaciones, las que junto con las presiones selectivas del medio constituyen la materia prima de la evolución. Las alteraciones en la regulación del proceso de muerte podrían resultar en un retardo o ausencia de muerte, dejando células supernumerarias abiertas a la posibilidad de formar nuevas interacciones celulares y adquirir nuevas funciones y enfrentar nuevas demandas.

Quedan aún por identificar los genes cuya expresión controla la expresión constitutiva del programa de muerte celular en linfocitos y en neuronas. Por otro lado, existen genes con un efecto protector como *bcl-2* y *bcl-x<sub>L</sub>*, para los que a pesar de conocerse los productos génicos y el resultado funcional de su sobreexpresión, aun se desconocen en detalle las bases bioquímicas de su funcionamiento. Una mejor comprensión de los mecanismos bioquímicos que llevan a la muerte será de gran utilidad para entender y posiblemente tratar entidades patológicas como la enfermedad de Alzheimers, el SIDA y el desarrollo de tumores, que resultan de alteraciones en el programa de muerte celular.

Agradecimientos: Erika Olivia Gómez González fue becaria de CONACyT, Alejandro Zentella fue apoyado por el programa de Repatriación del CONACyT. El manuscrito fue preparado por Ma. Guadalupe Pérez. Agradecemos a la Maestra Ma. de Jesús Ibarra por las fotografías de fragmentación de DNA.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Kerr JFR, Wyllie AH y Currie AR (1972) Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 26:239.
2. Duke RC, Ojcius DM y Young DE (1996) Cell suicide in health and disease. *Sci Amer* 52:48-55.
3. Ellis RE, Yuan J y Horvitz HR (1991) Mechanisms and functions of cell death. *Annu Rev Cell Biol* 7:663-698.
4. Oppenheim RW (1991) Cell death during development of the nervous system. *Annu Rev Neurosci* 14:453-501.
5. Allsopp TE, Wyatt S Paterson HF y Davies AM (1993) The proto-onco-gene *bcl-2* can selectively rescue neurotrophic factor-dependent neurons from apoptosis. *Cell* 73:295-307.
6. Vies DJ, Sorenson CM, Shutter JR y Korsmeyer SJ (1993) *Bcl-2*-deficient mice demonstrate fulminant lymphoid apoptosis, polycystic kidneys, and hypopigmented hair. *Cell* 75:229-240.
7. Vaux DL (1993) Toward understanding of the molecular mechanism of physiological cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:786-789.
8. Raff MC (1992) Social controls on cell survival and cell death. *Nature* 356:397-400.
9. Kerr JFR y Harmon BV (1991) Definition and incidence of apoptosis: an historical perspective. En: *Apoptosis: the molecular basis of cell death*. Editores: David L Tomei y Frederick O Cope. Número 3, de la serie: *Current Communications in Cell and Molecular Biology*. Cold Spring Harbour Laboratory Press, pp:5-29.
10. Lokshin RA y Wadewitz A (1990) Degeneration of myofibrillar proteins during programmed cell death in *Manduca sexta*. *UCLA Symp Mol Cell Biol* 123:283-290.
11. Peitsch MC, Mannherz HT y Tschopp J (1994) The apoptosis endonucleases: cleaning after cell death? *Trends Cell Biol* 4:37-41.
12. Cohen GM (1997) Caspases: the executioners of apoptosis. *Biochem J* 326:1-16.
13. Golstein P (1997) Controlling cell death. *Science* 275:1081-1082.
14. Wong GHW y Goeddel D (1994) Fas antigen and p55 TNF receptor signal apoptosis through distinct pathways. *J Immunol* 152:17511-1755.
15. Koury MJ (1992) Programmed cell death (apoptosis) in hematopoiesis. *Exp Hematol* 20:391-394.

# LOS CAROTENOIDES EN LA SALUD

Romina Rodríguez, Beatriz Ruiz y Sergio Sánchez. Departamento de Biotecnología. Instituto de Investigaciones Biomédicas. Universidad Nacional Autónoma de México. Apartado Postal 70-228, México 04510, DF, México. Fax. (525) 622 38 55.

## RESUMEN

El interés médico hacia los carotenoides se ha incrementado en los últimos quince años, debido a que algunos de estos pigmentos, además de ser provitamínicos, han demostrado tener capacidad de protección contra el daño fotooxidativo en tejidos de humanos. Las funciones antioxidantes de los carotenoides se han asociado a la disminución del daño al ADN y a la transformación maligna celular, tanto *in vitro* como *in vivo*, lo cual parece producir un decremento en la incidencia de algunos tipos de cáncer y de enfermedades degenerativas como las cataratas. En la presente revisión se mencionan las principales funciones biológicas de los carotenoides como provitamínicos, fotoprotectores, antioxidantes y en la estimulación del sistema inmune y se señalan los mecanismos de acción. Se hace referencia también a diversos estudios acerca del posible efecto antimutagénico de los carotenoides en bacterias, mamíferos y humanos.

**PALABRAS CLAVE:** Carotenoides, antioxidantes, provitamina A, anticancerígeno.

## ABSTRACT

The medical interest in carotenoids has been increasing in the last fifteen years because of the provitamin activity of some of these pigments and after the discovery of their ability to protect human tissues against photooxidative damage. The antioxidant functions of carotenoids are associated with a decrease of both, DNA damage and malignant-cell transformation, either *in vitro* or *in vivo*, and therefore they decrease the incidence of some cancers and some degenerative diseases as cataracts. In this review the main biological functions of carotenoids as provitamins, photoprotectors, antioxidants and stimulants of the immune system are mentioned, and some remarks in their mechanism of action are also made. In addition, several studies about the possible antimutagenic effect of carotenoids in bacteria and mammals including humans are discussed.

**KEYWORDS:** Carotenoids, antioxidants, provitamin A, anticancerigen.

## INTRODUCCIÓN

Se conoce como carotenoides a una de las familias de pigmentos naturales más importantes, cuya coloración va desde el amarillo hasta el rojo. Estos pigmentos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza (Tabla I) ya que la existencia de color en los organismos es un fenómeno relacionado con la adaptación al medio ambiente, por lo que se pueden encontrar asociados a mecanismos de protección, reproducción, transducción de energía, etc.

TABLA I

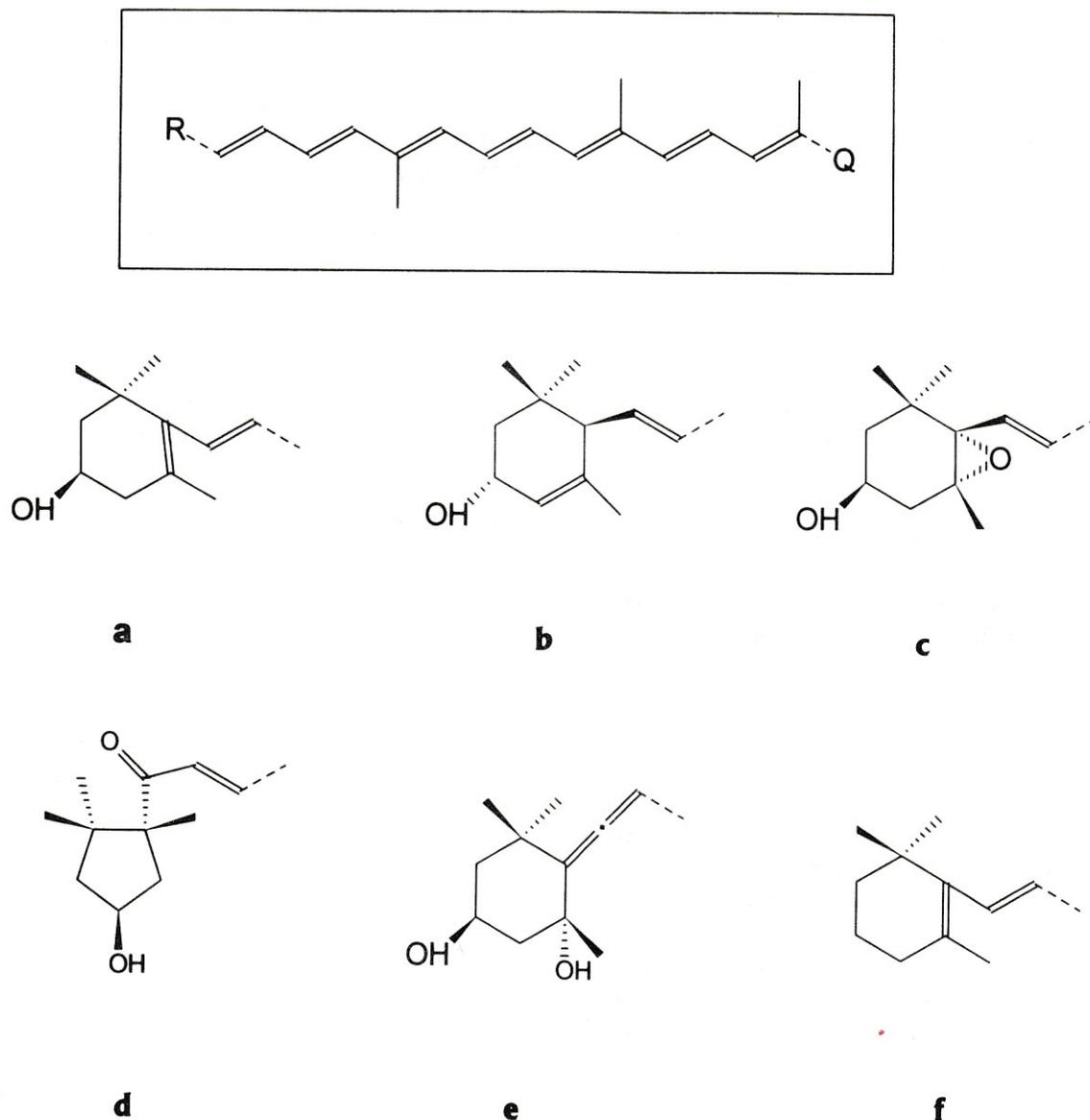
PRESENCIA DE CAROTENOIDES EN DIFERENTES ORGANISMOS		
PIGMENTO	FUENTES NO MICROBIANAS	FUENTES MICROBIANAS
$\beta$ -caroteno	zanahoria	<i>Blakeslea trispora</i> <i>Dunaliella salina</i>
licopeno	tomates	<i>Blakeslea trispora</i> <i>Streptomyces chrestomyceticus</i>
luteína	alfalfa	<i>Sporangiobolus excentrum</i>
	maíz cempasúchitl	<i>Chlorella pyrenoidosa</i> <i>Dacrymyces deliquescens</i>
zeaxantina	alfalfa	<i>Flavobacterium</i> sp.
	maíz cempasúchitl	<i>Erwinia herbicola</i>
astaxantina	peces (salmón)	<i>Phaffia rhodozyma</i> <i>Brevibacterium</i> sp.
	plumas de aves crustáceos	<i>Mycobacterium lacticola</i> <i>Peniophora</i> sp.
cantaxantina	plumas de aves crustáceos	<i>Brevibacterium</i> sp.
capoxantina	paprika	-----
crocentina	azafrán	-----

Desde el punto de vista químico los carotenoides son tetraterpenos constituidos por unidades múltiples de isopreno con un anillo de ciclohexeno sustituido e insaturado en cada uno de sus extremos (Figura 1). Existen dos tipos de carotenoides: los carotenos, que no contienen oxígeno en sus anillos terminales y las xantófilas que si lo tienen. Estas moléculas tienen actividades biológicas muy importantes que interesan no sólo desde el punto de vista científico, sino también desde el punto de vista de

la industria farmacéutica, que ha encontrado un mercado importante de antioxidantes para el consumo humano. Así, en este artículo se revisan las principales funciones biológicas de los carotenoides y se exponen algunos de los estudios realizados sobre sus posibles usos.

### ACCIÓN DE LOS CAROTENOIDES

Actividad de provitamina A. Una de las funciones mejor conocidas de los carotenoides es la capaci-



**Figura 1.** Esquema de algunos carotenoides que se encuentran en la naturaleza (Tomado de la referencia 1). La línea punteada indica el sitio de unión de cada radical (a, b, c, d, e ó f) a la molécula de tetraterpeno principal ya sea en el extremo Q ó R, según el tipo de carotenoide de que se trate. Zeaxantina, cuando R y Q = a; epóxido de luteína, cuando R = c y Q = b; luteína, cuando R = a y Q = b; neoxantina, cuando R = c y Q = e; anteraxantina, cuando R = a y Q = c; capsantina, cuando R = a y Q = d; violaxantina, cuando R y Q = c; capsorubicina, cuando R y Q = d;  $\beta$ -caroteno, cuando R y Q = f.

dad que tienen algunos de ellos de ser metabólicamente transformados a retinoides, los cuales son compuestos con actividad biológica de provitamina A. Se ha sugerido que el sitio inicial de esta conversión es la pared del intestino y que la reacción es catalizada por la  $\beta$ -caroteno-15,15'-dioxigenasa. Además existe evidencia de otro mecanismo en el que se formarían  $\beta$ -apo-carotenoides. Estos dos procesos resultarían en la formación de retinal, el cual puede sufrir reducción reversible a retinol u oxidación irreversible hasta ácido retinoico (1)

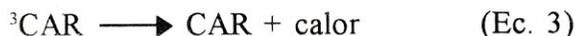
**Fotoprotección.** Los carotenoides tienen la capacidad de atrapar o inactivar varias especies de moléculas en estado de excitación electrónica. Esto se ha observado principalmente en moléculas excitadas en reacciones fotosensibles. Como se sabe, la luz puede convertir moléculas a una forma electrónicamente excitada de vida corta ( $^1S$ ), pero que puede interactuar con otras de su misma especie para formar una molécula estable ( $^3S$ ). Esta última es la que puede reaccionar con una gran variedad de moléculas para iniciar las reacciones fotoquímicas (Ec. 1).



Los carotenoides pueden interactuar con este triplete en una reacción de intercambio de energía que regenera la forma original de la molécula y transforma al carotenoide (CAR) en una especie excitada (Ec. 2).



El carotenoide en estado de excitación electrónica puede entonces perder la energía por medio de interacciones rotacionales y vibracionales con el solvente (2). Bajo estas condiciones, la molécula de  $^3\text{CAR}$  regresa a su estado basal al liberar calor (Ec. 3).

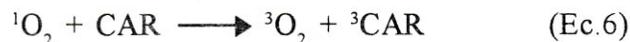


En algunas circunstancias cuando los carotenoides no inactivan a todos los tripletes formados, las especies pueden iniciar dos tipos de reacciones fotoquímicas. En el tipo I (Ec. 4) el triplete puede reaccionar con varias moléculas y generar radicales libres que pueden iniciar reacciones diversas y da-

ñar a las células. En el tipo II (Ec. 5) el triplete reacciona directamente con el oxígeno y forma una molécula de oxígeno excitada electrónicamente llamada oxígeno singulete ( $^1O_2$ ). Esta reacción ocurre porque el oxígeno en estado basal puede existir en forma de triplete ( $^3O_2$ ) y por lo tanto reaccionar con especies excitadas ( $^3S$ ) en una reacción conservada de spin-spin.

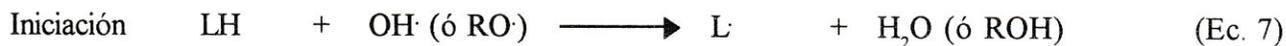


El oxígeno singulete es una especie extremadamente reactiva capaz de iniciar la peroxidación de lípidos al reaccionar con ácidos grasos insaturados; de inactivar proteínas y enzimas al reaccionar con aminoácidos como metionina, histidina, triptófano o tirosina o bien de oxidar residuos de guanina en el ADN o el ARN. Se ha demostrado que los carotenoides son muy efectivos para la inactivación de  $^1O_2$  en un proceso en el cual se forma el triplete del carotenoide (Ec. 6).



Como se mencionó, el  $^3\text{CAR}$  puede regresar a su estado basal con la liberación de una pequeña cantidad de calor (Ec.3). De esta manera los carotenoides pueden atrapar catalíticamente el  $^1O_2$  y evitar el daño fotooxidativo iniciado por esta molécula reactiva.

**Actividad antioxidante.** Los carotenoides también pueden reaccionar con radicales libres como los formados en las reacciones fotoquímicas del tipo I. Para probar lo anterior se ideó un experimento en el que se prepararon liposomas que contenían ácidos grasos insaturados (LH) de yema de huevo, colesterol y en el caso de los grupos experimentales también se adicionó  $\beta$ -caroteno o cantaxantina. Los liposomas fueron expuestos a  $\text{FeCl}_2$  para iniciar la peroxidación. Después de un periodo de espera de alrededor de 90 minutos se inició la oxidación (Ec. 7), la cual se determinó por aparición de malondialdehído. Los liposomas que contenían  $\beta$ -caroteno o cantaxantina no iniciaron la peroxidación de lípidos, lo cual refleja una inhibición en los pasos iniciales de la peroxidación catalizada por el fierro (Ec. 8 y 9).



LH: ácido graso insaturado

L': ácido graso insaturado diferente a L

L·: radical libre del ácido graso insaturado

LOO·: radical libre del ácido graso peroxidado

Aún cuando no se conoce la reacción química específica que ocurre cuando el carotenoide interactúa con el radical, sí se sabe que la cadena de polieno se rompe y el carotenoide pierde el color.

Estimulación del sistema inmune. Existen varios reportes que describen alteraciones en el comportamiento inmunológico después de la administración de carotenoides. Se ha demostrado en ratones que una dieta con carotenoides, disminuye la velocidad de crecimiento de tumores implantados (3) y en algunos casos se ha obtenido regresión en tumores inducidos por virus (4).

Aún no se sabe cómo los pigmentos de tipo carotenoide pueden funcionar en esta estimulación, lo que sí se conoce es que el daño oxidativo a las membranas limita la respuesta inmune y posiblemente los carotenoides funcionen como antioxidantes de éstas.

### ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE ALGUNOS CAROTENOIDES

Acción antimutagénica en sistemas bacterianos. Se ha observado que en *Salmonella typhimurium* expuesta a 8-metoxipsoralen (8-MOP) y luz UV de 330 a 400 nm (UV-A) -mezcla que se sabe es mutagénica en células de animales- la adición del β-caroteno disminuye la aparición de mutantes bacterianas. También se ha reportado que la adición de β-caroteno previene la aparición de mutantes en bacterias expuestas a ciclofosfamida. Así mismo, se ha observado una inhibición en el desarrollo de compuestos mutagénicos *in vivo*, en ratas tratadas con ciclofosfamida a las cuales se les administró β-caroteno (1).

Efecto en cultivos celulares. En cultivos de células de las glándulas mamarias de ratón en los cuales se puede inducir transformación maligna con carcinógenos químicos como el 7,12-dimetilbenzoantraceno (DMBA), la presencia del β-caroteno logra evitar dicha transformación. En células de ovario de hamster, a las cuales se les habían inducido aberraciones cromosómicas con diferentes compuestos genotóxicos, se observó que los carotenoides lograban bloquear la acción de dichos compuestos. Este mismo efecto preventivo se encontró en células tratadas con metilcolantreno o rayos X (5).

En un ensayo *in vitro* con la línea celular 10T½ de ratón y con queratinocitos de humanos, se mostró que los carotenoides tanto con actividad o no de provitamina A, inhibían de manera similar tanto la oxidación de las membranas como la transformación neoplásica y regulaban la expresión de la *conexina 43*, un gen que codifica para la unidad estructural de los conexones, la unidad básica en la formación de sincicio. Esta última actividad está estadísticamente correlacionada con la capacidad para inhibir la transformación neoplásica. Dicha actividad se observó en fibroblastos y queratinocitos de humanos en cultivos con β-caroteno y/o cantaxantina, en los que se presenta una regulación del gen de *conexina 43*, similar a como lo hacen los retinoides (6).

Efectos en sistemas animales. Se ha observado que en ratones con cáncer en la piel, por exposición a luz UV de 80 a 200 nm (UV-B), hay una disminución en la incidencia de tumores por la administración de dietas con β-caroteno. Se ha demostrado que una dosis de 2 g de carotenoide/Kg

de alimento protege a los ratones tratados con UV-B, DMBA o con promotores tumorales, en relación con el número de tumores que forman. Otros reportes indican que 700 mg/Kg de alimento es suficiente para brindar protección, al menos contra tumores provocados por luz UV-B, y que esta concentración es válida tanto para cantaxantina como para  $\beta$ -caroteno (7).

Además de la fotocarcinogénesis, se ha reportado que la adición de  $\beta$ -caroteno o cantaxantina en dosis de 500 mg/Kg de alimento, previene la evolución del cáncer de estómago inducido en ratas por N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina. También al alimentar con  $\beta$ -caroteno, en una concentración de 100 mg/Kg de alimento, se observó una disminución en el número de micronúcleos en eritrocitos policromáticos de médula ósea, después de tratar a los ratones con mitomicina C o B (8).

Hay muchos otros reportes donde los carotenoides se han usado para modular a los carcinógenos de la dieta o ambientales. En un estudio en hamster, se indujo la aparición de tumores por aplicación de DMBA directamente a las células bucales y posteriormente se les trató de la misma manera (tópica) o se les inyectó en la zona del tumor con diferentes carotenoides. Se reportó una disminución en el número de tumores y una regresión de los mismos, tanto con  $\beta$ -caroteno como con cantaxantina y también con una preparación de carotenoides extraídos de dos algas: *Spirulina* y *Dunaliella* (9).

Estudios en humanos. Entre un 5 y un 50% del proceso de absorción del  $\beta$ -caroteno en el hombre es tan sólo por difusión pasiva. Una fracción de los carotenoides es convertida en retinol en los enterocitos y solubilizada para su transporte; la otra fracción es transportada intacta vía la linfa intestinal (10).

Como se sabe, en el hombre es difícil realizar experimentación directa por lo que mucho de lo que se conoce es el resultado de la acumulación de observaciones. Por ejemplo, se ha encontrado que hay una relación inversa entre el  $\beta$ -caroteno del plasma y la incidencia de diferentes tumores, siendo la correlación más importante que se tiene con el cáncer de pulmón. Se trataron con carotenoides y vitamina A a varias poblaciones de la India y las

Filipinas con alto riesgo de desarrollar cáncer oral, ahí se encontró que tanto la vitamina A como el  $\beta$ -caroteno disminuyen la incidencia de células micronucleadas en estas poblaciones. Por otro lado, la cantaxantina no tuvo ningún efecto, lo que sugiere que el resultado es debido a retinoides y no a carotenoides en general (1).

La actividad anticancerígena reportada para los carotenoides parece estar relacionado con su capacidad antioxidante. Esta capacidad fue evaluada en el caso del  $\beta$ -caroteno y cantaxantina en timocitos normales y tumorales. Ambos tipos de células fueron expuestos al butil hidroxiperóxido y se midió la peroxidación de los lípidos en presencia o ausencia de los dos carotenoides. Los resultados mostraron que ambos carotenoides son capaces de inhibir la formación de malondialdehído de manera dosis-dependiente. Se observó también que aunque el  $\beta$ -caroteno se consume más rápido que la cantaxantina, esta última es mejor antioxidante que el  $\beta$ -caroteno; así mismo, se encontró mayor inhibición de la peroxidación en los timocitos tumorales. En ese trabajo (11) se confirma la efectividad de los carotenoides como antioxidantes en células tumorales y normales, pero es claro que las respuestas varían mucho en función de los tipos celulares y los carotenoides utilizados.

Van Poppel en (12) resume la gran mayoría de los trabajos relacionados con cáncer y carotenos. En algunos de estos se reporta una fuerte asociación entre dietas bajas en carotenoides (o bajas concentraciones de éstos en plasma) con cáncer estomacal y del pulmón. En el caso de cáncer colo-rectal la asociación es pobre. Finalmente, no se encontró ninguna correlación entre los niveles de carotenoides en plasma y los cánceres de próstata y mama. Otra relación importante es la que existe entre antioxidantes como las vitamina E, C y carotenoides con cataratas. Se ha observado que personas con altas concentraciones de carotenoides en plasma ( $>3.3 \mu\text{mol/l}$ ) tienen cinco veces menos prevalencia de cataratas que personas con bajas concentraciones de carotenoides ( $1.7 \mu\text{mol/l}$ ). En estudios hechos en el ojo se encontraron básicamente dos carotenoides: luteína y zeaxantina, los cuales pueden atrapar el oxígeno singulete que es capaz de oxidar a las proteínas retinales y provocar las cataratas.

También existe evidencia epidemiológica consistente, en relación a la incidencia de enfermedades cardiovasculares y consumo de carotenoides. Por ejemplo, se ha visto que el consumo de frutas y legumbres reduce la mortalidad por este tipo de enfermedades, y se ha encontrado que las dietas ricas en licopeno y luteína más que en  $\beta$ -caroteno tienen este efecto. En un estudio hecho a 195 pacientes turcos, con alguna enfermedad cardiovascular, se observaron niveles de  $\beta$ -caroteno de 1.53  $\mu\text{mol/l}$ , lo cual contrastaba con los niveles de 2.2  $\mu\text{mol/l}$  que presentó el grupo control. Sin embargo, las concentraciones más bajas fueron observadas en las personas que habían sufrido infarto al miocardio (0.77  $\mu\text{mol/l}$ ) (13).

Se reportó un estudio parecido, pero usando sujetos de nueve diferentes países europeos, los cuales acababan de sufrir su primer infarto al miocardio. Se les midieron concentraciones de  $\beta$ -caroteno en el tejido adiposo y se encontró que eran muy bajas en relación al grupo control. Se realizaron biopsias un día después del infarto y nuevamente se midieron las concentraciones de carotenoides, ajustando los datos por edad, peso, hábitos (fumar, beber, etc.) y se encontró que el  $\beta$ -caroteno está inversamente relacionado con el riesgo de infarto al miocardio (14).

## CONCLUSIONES

Existen muchas explicaciones posibles para el efecto de los carotenoides en la disminución del riesgo a sufrir cáncer o enfermedades cardiovasculares.

Los carotenoides son antioxidantes potentes y se sabe que el estrés oxidativo contribuye a la carcinogénesis, al envejecimiento celular y al daño a moléculas biológicamente activas. También, muchos carotenoides pueden ser convertidos a retinoides, los cuales son agentes preventivos de cáncer en diferentes sitios del cuerpo y también se puede mencionar que los carotenoides tienen un efecto intrínseco como quimiopreventivo del cáncer.

Mucha de la información con la que se cuenta ha sido desarrollada en modelos experimentales animales; sin embargo, hay que considerar que se tienen algunas limitaciones. Un ejemplo son las ratas y los ratones que difieren de manera muy significa-

tiva de los humanos en lo que a absorción de carotenoides se refiere, ya que las moléculas intactas se toman de manera muy limitada y cualquier carotenoide que es absorbido se metaboliza rápidamente. Se han sugerido a algunos rumiantes como alternativas de estudio, pero ninguno de estos han sido evaluados satisfactoriamente en estudios de carcinogénesis (15).

La investigación epidemiológica sugiere que una dieta rica en vegetales y frutas, puede disminuir la incidencia de diferentes cánceres y enfermedades, lo cual se puede asociar sólidamente con la elevación del  $\beta$ -caroteno en la sangre. La explicación más simple es que el  $\beta$ -caroteno protege; sin embargo, pueden ser otros carotenoides u otros constituyentes vegetales no identificados, los relacionados con el efecto preventivo y de protección por lo que se deben explorar esas otras opciones.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Krinsky N I (1987) Carotenoids in medicine. En: Carotenoids. Chemistry and Biology, Editores: Krinsky, N I, Mathews-Roth M M y Taylor R F. Plenum Publishing Corporation, New York, USA, pp 279-291.
2. Codgell R J, Monger T G y Parson W W (1975) Carotenoid triplet states in reaction centers from *Rhodospseudomonas sphaeroides* and *Rhodospirillum rubrum*. *Biochim Biophys Acta* 408: 189-199.
3. Rettura G, Stratford F, Levenson S M y Seifter E (1982) Prophylactic and therapeutic actions of supplemental  $\beta$ -carotene in mice inoculated with C3HBA adenocarcinoma cells: Lack of therapeutic action of supplemental ascorbic acid. *J Natl Cancer Inst* 69: 73-77.
4. Seifter E, Rettura G, Padawer J y Levenson S M (1982) Murine sarcoma virus tumors in CBA/J mice: Chemopreventive and chemotherapeutic actions of supplemental  $\beta$ -carotene. *J Natl Cancer Inst* 68: 834-840.
5. Som S, Chatterjee M y Banerjee M R (1984)  $\beta$ -carotene inhibition of 7,12-dimethylbenz-anthracene-induced transformation of murine mammary cells *in vitro*. *Carcinogenesis* 5: 937-940.
6. Bertram J S y Bortkiewicz H (1995) Dietary carotenoids inhibit neoplastic transformation and modulate gene expression in mouse and human cells. *Am J Clin Nutr* 62: 1327-1336.

7. Mathews-Roth M M y Krinsky N Y (1985) Carotenoids dose level and protection against UV-B induced skin tumors. *Photochem Photobiol* 42:35-38.
8. Raj A S y Katz M (1985)  $\beta$ -carotene as an inhibitor of benzo(a)pyrene and mitomycin C induced chromosomal breaks in the bone marrow of mice. *Can J Genet Cytol* 27:598-602.
9. Suda D, Schwartz, J M y Shklar G (1986) Inhibition of experimental oral carcinogenesis by topical  $\beta$ -carotene. *Carcinogenesis* 7:711-715.
10. Norum K R y Blomhoff R (1992) Vitamin A absorption, transport, cellular uptake and storage. *Am. J Clin Nutr* 56:735-744.
11. Palozza P, Luberto C, Ricci P, Sgarlata E, Calviello G y Bartoli G M (1996) Effect of  $\beta$ -carotene and canthaxanthin on tert-butyl hydroperoxide-induced lipid peroxidation in murine normal and tumor thymocytes. *Arch Biochem Biophys* 325:145-151.
12. Jacques P F y Chylack L T (1991) Epidemiologic evidence of a role for the antioxidant vitamins and carotenoids in cataract prevention. *Am J Clin Nutr* 53:325-355.
13. Torum M, Yardim S, Sargin H y Simsek B (1994) Evaluation of serum  $\beta$ -carotene levels in patients with cardiovascular diseases. *J Clin Pharm Ther* 19:61-63.
14. Kardinaal A F M, Kok F J y Ringstad J (1993) EURAMIC Study: antioxidants in adipose tissue and the risk of myocardial infarction. *Lancet* 342:1379-1384.
15. Poor C L , Bierer T L, Merchen N R, Fahey G C, Murphy M R y Erdman J W (1992) Evaluation of the preruminant calf as a model for the study of human carotenoid metabolism. *J Nutr* 122:262-268.

# AP-1, UN FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN CLÁSICO

Rocío Alcántara Hernández. Departamento de Biología Celular, Instituto de Fisiología Celular, 04510, Apdo. Postal 40-278, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

## RESUMEN

Durante la proliferación celular ocurren fenómenos tales como la duplicación del material genético y su separación en dos juegos (para asegurar que cada célula hija reciba un conjunto completo de cromosomas). La división celular, y por lo tanto la proliferación, es finamente regulada por una compleja maquinaria en la que participan entre otros elementos los denominados factores de transcripción que viajan al núcleo de la célula después de ser fosforilados. En el núcleo, estas proteínas se unen al ADN en secuencias reguladoras específicas que controlan la expresión de los genes. La superfamilia de los factores de transcripción AP-1 (AP-1 del inglés: activator protein 1) está formada por dos familias de proteínas: Fos y Jun, ambas relacionadas porque tienen una estructura muy similar. Estas proteínas se asocian entre sí para formar homodímeros o heterodímeros que se unen al ADN, específicamente a la secuencia TRE (TRE del inglés: TPA o tetradecanoil-phorbol-myristate-acetate response element) o también llamada secuencia AP-1. Las proteínas Fos y Jun son los productos de los protooncogenes correspondientes *fos* y *jun*, a los cuales se les relaciona con el control de la proliferación, con la diferenciación o con la apoptosis de muchos tipos de células.

**PALABRAS CLAVE:** factor de transcripción AP-1, protooncogen *fos*, protooncogen *jun*.

## ABSTRACT

During cell proliferation several phenomena, such as the duplication of the genetic material and its segregation into two copies take place (assuring that each daughter cells inherits a complete set of chromosomes). The cellular division is a process regulated by a complex machinery that involves transcription factors that after phosphorylation are translocated to the nucleus to exert their effects. In the nucleus, these proteins bind to specific sequences in DNA that control expression of the target genes. The AP-1 (activator protein 1)

transcription factor superfamily is constituted by two protein families: Fos and Jun, both related by their structural similarities. These proteins interact among them to produce homodimers and heterodimers that bind to DNA recognizing the TRE element (TPA response element) also known as AP-1 sequence. Fos and Jun are products of the corresponding *fos* and *jun* protooncogenes, related with proliferation-control, differentiation or with apoptosis in a wide variety of cell types.

**KEY WORDS:** AP-1 transcription factor, *fos*, *jun* protooncogenes.

## INTRODUCCIÓN

Las señales extracelulares, ya sean hormonas proteicas, neurotransmisores, citocinas o factores de crecimiento se unen a sus receptores específicos localizados en la membrana plasmática y desencadenan en el interior de la célula distintas cascadas de amplificación que terminan en respuestas celulares rápidas o lentas. Por un lado, los efectos rápidos se presentan en el orden de segundos a minutos y se observan como cambios en la producción de urea, en la síntesis y en la degradación hepática de glucógeno, de lípidos y de proteínas; mientras que los efectos lentos que llevan horas, en mamíferos pueden ser ejemplificados por la expresión de los genes tardíos, entre los que se encuentran: el gen de la enzima tirosinasa que participa en la biosíntesis de la melanina, el gen de la citosina desaminasa, el gen de la nitrorreductasa, el gen de la timidina cinasa o el gen de la timidina fosforilasa; y en general, todos los genes que son responsables de la síntesis de las proteínas del metabolismo de la célula (1).

En la expresión de los genes los elementos que funcionan como mensajeros nucleares de la señal extracelular son los llamados factores de transcripción (2). Estas proteínas citoplásmicas pasan de un estado inactivo o de reposo a un estado activo, cuando son fosforiladas por las proteínas cinasas

que les transfieren grupos fosfato a residuos de serina o de treonina. Los factores de transcripción son generales si están presentes en todas las células o bien, son específicos de una célula o de un gen (1). La fosforilación parece ser una señal para que los factores de transcripción viajen al núcleo de la célula en donde reconocen secuencias específicas localizadas en el ADN (3). La interacción del factor con la secuencia consenso correspondiente tiene un efecto positivo o negativo sobre la frecuencia de transcripción del gen que regulan (1,3). Cada gen tiene una combinación particular, un número y un arreglo especial de elementos de control *cis*, es decir, de secuencias reguladoras situadas en general, en el promotor del gen. Estas regiones reguladoras abarcan los primeros 100 pares de bases (pb) anteriores al sitio de inicio de la transcripción (+1 pb), aunque existen sitios de unión a factores de transcripción que se pueden encontrar fuera de esta región. La combinación de dichas secuencias le confiere a cada gen un programa transcripcional individual (3), por lo que un mismo factor puede inducir o reprimir la expresión de los genes blanco, participando así en la regulación de una gran variedad de procesos celulares tales como el metabolismo, la proliferación, la diferenciación, el mantenimiento estructural o la muerte celular, etcétera (2). Varias de estas secuencias como por ejemplo, las cajas TATA, GC y CAAT son comunes a muchos genes transcritos por la ARN polimerasa II, sin embargo, un número más grande de regiones son particulares de cada gen (4).

El estudio de la estructura y función de los factores de transcripción es muy amplio. La caracterización de estos factores se logró con el desarrollo de sistemas de purificación de extractos nucleares por cromatografía de afinidad, en la que se emplean, precisamente, las secuencias específicas del ADN a las que se unen. Para el caso de la familia de los factores AP-1 se utilizó la secuencia consenso TGACTCA (Fig. 1).

Los factores de transcripción puros han servido por una parte, para el estudio bioquímico de su estructura y función, y por otra, para su secuenciación, lo que ha permitido la obtención de clones que expresan grandes cantidades de estas proteínas (3). Se sabe que todos los factores tienen un

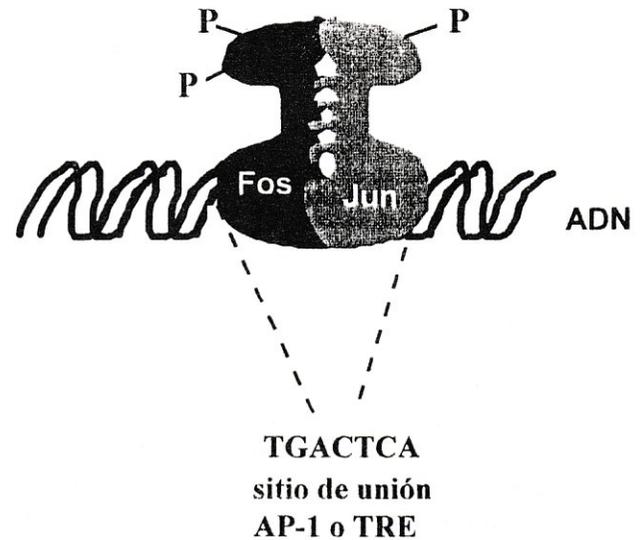


Fig. 1. Esquema representativo de la secuencia consenso TGACTCA llamada AP-1 o TRE para el factor de transcripción AP-1. La secuencia AP-1 está presente en el promotor de una gran diversidad de genes (4-13).

dominio de unión al ADN rico en residuos de lisina, arginina e histidina, razón por la cual se le llama dominio básico. Con base a la estructura, los factores de transcripción forman varios grupos. Por ejemplo, los factores bZip, AP-1 y AP-2 tienen además, una región de leucinas en serie que asemeja una cremallera o “zipper” y que les confiere la capacidad de unirse entre sí; los factores SP1 tienen un dominio de “dedos de zinc” formado por dos cisteínas y dos histidinas, que estabiliza el sitio de unión del zinc a la proteína; los factores OCT-1 y OCT-2 (OCT o OTF del inglés: octamer binding factors) tienen homeodominios de 60 aminoácidos que forman una estructura similar a la que presentan los sitios de unión al ADN de las proteínas represoras en procariotos; y el factor Myc que tiene el dominio de cremallera de leucinas, pero carece de la región básica (2,3).

La familia de los factores de transcripción AP-1 ha sido una de las más estudiadas, encontrándose que tiene una diversidad de efectos funcionales que se explica por el hecho de que la secuencia reguladora AP-1 se encuentra en la región promotora de genes muy diversos (4-13). Por ejemplo, la secuencia AP-1 está presente en el promotor del gen de la integrina p150, un receptor para moléculas de adhesión (13). La misma secuencia se encuentra en el promotor de distintos genes de la colágena, la principal proteína fibrosa

de la piel, huesos, tendones, cartílagos, vasos sanguíneos y dientes (7). Esta secuencia también se encuentra en el promotor de los genes que codifican las proteínas Fos y Jun, las subunidades que constituyen al factor de transcripción AP-1. La sobreexpresión de estos factores se asocia con estímulos proliferativos y con el cáncer (4-7), ver la Tabla I.

Tabla I. El factor de transcripción AP-1 regula la expresión de genes que codifican para proteínas que participan en el metabolismo, la diferenciación y la proliferación celular.

Gen	Sitio AP-1	Proteína	Función	Referencias
<i>jun</i>	promotor	Jun 39 kDa	Proliferación y Diferenciación Muerte celular	4, 5, 6 y 7 8
<i>fos</i>	promotor	Fos 55 kDa	Proliferación y Diferenciación Muerte celular	4, 5, 6 y 7 8
<i>mapk</i>	promotor	MAPK p44	Proteína cinasa que promueve proliferación celular	9
<i>odc</i>	no determinado	Omitina descarboxilasa	Metabolismo de poliaminas. Síntesis de ADN	10
<i>colagenasa IV</i>	promotor y exón	Colagenasa IV	Destrucción de matriz extracelular Remodelación de cartílago y hueso	11
<i>colágena</i>	promotor	Colágena I, II, III, IV	Componente de la matriz extracelular. Mantenimiento estructural de los tejidos	7
<i>metalotionina IIA</i>	promotor	Metalotionina IIA	Estrés oxidativo	4 y 6
<i>estromelisininas 1 y 2</i>	no determinado	Estromelisininas 1 y 2	Proteasas	7
<i>polimerasa del ADN</i>	no determinado	Polimerasa del ADN	Síntesis del ADN	12
<i>histona</i>	promotor	Histona	Proliferación	12
<i>CD11c</i>	promotor	Integrina p150	Receptor para moléculas de adhesión. Interacción célula-célula	13

Si bien no todos los genes tienen la secuencia AP-1 en sus promotores, la expresión de aquellos que la presentan dependen sólo de manera parcial de este factor, ya que tienen sitios para otros factores transcripcionales, como se ilustra en la figura 2 para los promotores de los protooncogenes *fos* y *jun*.

La historia del factor de transcripción AP-1 comenzó en la década de los 80's cuando Curran y sus colaboradores (6) investigadores del campo de los oncogenes, describieron en 1982 al protooncogen *fos* como el elemento responsable de inducir los sarcomas osteogénicos por el virus FBJ (Finkel, Biskins y Jinkins). Dos años más tarde, entre 1984 y 1986 este mismo grupo demostró

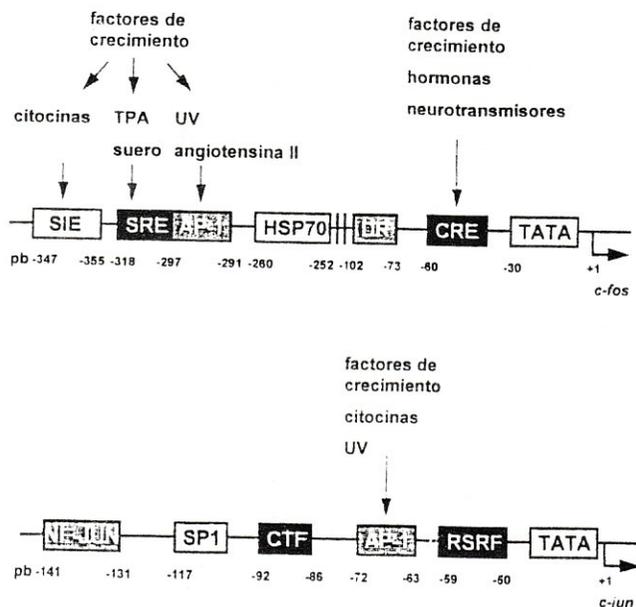


Fig. 2. Representación de los promotores de los protooncogenes *c-fos* y *c-jun*. Regiones reguladoras positivas y negativas que responden a distintas señales extracelulares, entre las que se encuentran el tetradecanoil-forbol-miristato-acetato (TPA) y la luz ultravioleta (UV), la angiotensina II, el suero, las citocinas, etc. (4,5). El promotor de *c-fos* tiene la caja HSP70, un elemento de respuesta a proteínas del estrés calórico; SIE, elemento inducible por el suero; DR, elemento cuya secuencia es de repeticiones directas; CRE, elemento de respuesta al AMPc y al calcio; la secuencia AP-1 y la caja TATA característica de muchos genes. El promotor de *c-jun* tiene la secuencia AP-1; la caja NF-Jun, el elemento de respuesta al factor nuclear Jun y secuencias que responden al suero y a factores de crecimiento como por ejemplo, la secuencia RSRF (4,5).

que el producto génico de *fos*, es decir la proteína Fos, forma un complejo heterodimérico con otra proteína de 39 kDa que tiene la capacidad de reconocer elementos reguladores en el ADN. Así, en el año de 1987, se describió a un nuevo factor transcripcional denominado AP-1, el cual se une tanto al promotor del virus SV40, como al promotor del gen de la metalotionina IIA y también a regiones de control de genes virales y celulares que responden a sustancias inductoras de tumores, como los ésteres de forbol. Para el año de 1988, el grupo de Rauscher identificó a la proteína de 39 kDa como Jun. Ese mismo año, el grupo de Franza demostró que la proteína Fos también se une a las secuencias consenso AP-1, por lo que quedó establecida la relación entre Fos, Jun y el factor de transcripción AP-1. Actualmente, se conoce con bastante detalle la regulación de este factor a nivel transcripcional y a nivel post-traducciona. Esta regulación responde a estímulos específicos tan diferentes como son hormonas, por ejemplo, la

angiotensina, o como son factores de crecimiento, por ejemplo, el factor de crecimiento epidermal (EGF), ver la Tabla II. La angiotensina y el EGF utilizan para generar sus efectos celulares, vías de transducción distintas entre sí (1,4).

Tabla II. Características principales de los protooncogenes *fos* y *jun*. Estímulos extracelulares que inducen su expresión. Modificada de la referencia 5.

ARNm de <i>fos</i>	Proteína Fos	Estímulos extracelulares	Tipo celular
Vida media 30 min	Vida media 30 min	Luz ultravioleta.	Fibroblastos
2.2 Kb	55 kDa	Suero, EGF, PDGF, FGF	Fibroblastos
3500 nucleótidos	3800 aminoácidos	Neurotransmisores y NGF	Neuronas
		TNF	Células adipogénicas
		Interferón $\gamma$	Macrófagos
		Angiotensina II	Músculo liso vascular
		Estrógeno	Útero
		Endotelina	Células mesangiales
ARNm de <i>jun</i>	Proteína Jun	Estímulos extracelulares	Tipo celular
Vida media 30 min	30 kDa	TGF $\beta$	Miocytes
	331 aminoácidos	Angiotensina II	Músculo liso de aorta
		Ácido retinoico	Células HeLa
		Factor activador de plaquetas	Células B

A continuación se describen, en forma breve, las características más notables de los genes y de las proteínas que conforman al factor de transcripción AP-1.

### Fos

La familia de genes a la que pertenece *fos* está integrada por siete miembros: *v-fos*, *c-fos*, *fosb*, *fra1*, *fra2*, *dFra* y *dJRA*. El oncogen *v-fos* tienen este nombre porque se aisló originalmente de un osteosarcoma inducido por el virus del sarcoma murino FBJ y por el virus transformante de las aves FBR (Finkel, BiReilly), el homólogo celular recibe el nombre de *c-fos*. Los genes *dFRA* y *dJRA* son genes de *Drosophila* relacionados con esta familia (5).

Los genes de la familia Fos son genes de inducción temprana ya que su transcripción se inicia

pocos minutos después de que la célula estuvo en contacto con el estímulo inductor: factores de crecimiento y mitógenos (5). El ARN mensajero (ARNm) del protooncogen *fos* tiene una vida media de sólo 30 minutos, por lo que se le considera un gen de expresión transitoria, su rápida remoción depende de la presencia de dos regiones ricas en adenina y uracilo, localizadas en ambos extremos del ARNm, que facilitan su degradación por ribonucleasas (5).

La regulación de la expresión de estos genes es compleja ya que en ella participan factores transcripcionales que tienen tanto efectos positivos (inductores) como negativos (represores) (3-5). Por ejemplo, la secuencia SRE (SRE del inglés: serum response element) que va de -297 pb a -318 pb regula positivamente su transcripción en respuesta al suero, al TPA, a los factores de crecimiento y a la radiación ultravioleta (5). A esta región SRE se unen los factores p62TCF y p67SRF de manera que se forma un complejo ternario que a su vez, es regulado por la fosforilación. Por otra parte, la secuencia que va de -73 pb a -102 pb del promotor de *fos* es un elemento de control negativo del gen que responde al factor p105RB, considerado un supresor de tumores (5).

La vida media de *fos* se relaciona con su potencial de transformación, la sobreexpresión de este protooncogen se asocia a una proliferación descontrolada. Los miembros de la familia Fos tienen diferente potencial para inducir la transformación de las células, *fosb* es el más potente, probablemente esto se deba a que su ARNm es más estable por carecer de la región en donde se forma la horquilla de término de la transcripción en el extremo 3' (5).

El producto del protooncogen *fos* es una proteína nuclear que tiene un dominio de cremallera de leucinas que le permite formar heterodímeros con otros factores, tiene además, un dominio básico que le permite el reconocimiento de la secuencia TGACTCA en el ADN (Fig. 1) y cinco regiones homólogas a todos los miembros de esta familia. El extremo carboxilo de la proteína es importante para la modulación negativa de su actividad; es una región que está ausente en los miembros de la familia Fos con mayor potencial de transformación tales

como las proteínas FBJ-MuSv, FBR-MuSv y Fosb2 (3,5).

## JUN

La familia Jun recibió este nombre porque *v-jun* se aisló originalmente del virus del sarcoma de las aves AVS 17, la palabra *junana* significa número 17 en japonés (5). Los genes de esta familia son *v-jun*, *c-jun*, *junb* y *jund*; éstos codifican para una de las subunidades del factor de transcripción AP-1, y al igual que los genes de la familia Fos son genes de inducción temprana y transitoria. Su expresión es regulada igualmente por una gran cantidad de señales extracelulares específicas (Tabla II).

El promotor del gen *c-jun* es más simple comparado con el de *c-fos* (2) (Fig. 2), *c-jun* tiene una variante de la secuencia AP-1 en la posición de -63 pb a -72 pb, con 1 pb menos, lo que permite que el heterodímero Jun-ATF2 se una a la secuencia AP-1 con mayor afinidad. Por medio de esta secuencia, el protooncogen *c-jun* autorregula positivamente su transcripción. Por otro lado, la secuencia reguladora CREB (CREB del inglés: cAMP response element binding proteins) presente en este promotor es un elemento de control negativo; su ocupación por el factor CREB reprime la expresión del gen (2,4,5).

La proteína nuclear Jun forma homodímeros o heterodímeros con los miembros de la familia Fos para integrar al factor de transcripción AP-1. El complejo Jun-AP-1 puede ser fosforilado en cinco sitios de serina y treonina por diferentes proteínas cinasas.

## AP-1

AP-1 es un factor de transcripción que resulta de la expresión de los protooncogenes *fos* y *jun* y de sus productos correspondientes. Este factor controla la expresión de muchos genes (Tabla I), pero además, contribuye a la actividad de otros factores. Fos y Jun, de manera independiente cada uno, forman dímeros con el factor ATF4, y Jun también con los factores ATF2 y ATF3 (4).

La regulación del factor AP-1 es compleja, considerando en primer lugar, que a nivel transcripcional cada uno de los componentes es el producto de genes distintos, con secuencias reguladoras es-

pecíficas que responden a distintas señales extracelulares. En segundo lugar, porque a nivel post-traducciona la actividad de los factores, ya sean preexistentes o sintetizados *de novo* son modulados por la fosforilación mediada por cinasas tales como la proteína cinasa C (PKC), la proteína cinasa A (PKA), la cinasa activada por mitógenos (MAPK), la cinasa específica de Fos llamada FRK (FRK del inglés: Fos related kinase) y la cinasa específica de Jun, la JNK (JNK del inglés: Jun amino terminal kinase). Al parecer, la fosforilación afecta la estabilidad y la conformación de AP-1 lo que influye directamente en su actividad de unión al ADN y, por lo tanto, en su actividad transcripcional. Sobre la identidad de las proteínas fosfatasa (enzimas que hidrolizan el enlace fosfodiéster entre el grupo fosfato y el aminoácido) que regulan la actividad del factor se conoce poco (6).

Es importante mencionar que existe un inhibidor específico de la función de AP-1; se trata de una proteína de 40 kDa. El inhibidor llamado IP-1 (IP-1 del inglés: inhibitor protein 1) se activa por la desfosforilación, dicha modificación le permite unirse a Fos o a Jun, de manera que impide la unión del factor AP-1 al ADN (14).

## VÍAS DE TRANSDUCCIÓN QUE REGULAN LA ACTIVIDAD DE AP-1

Muchas señales extracelulares inducen la expresión de los protooncogenes *fos* y *jun* por medio de diversas vías de transducción (Fig. 3). La vía que se relaciona a los receptores para factores de crecimiento es la mejor caracterizada (2,4). La activación del receptor por su ligando promueve su autofosforilación en residuos de tirosina, así como su dimerización (4). En este grupo caen el EGF, el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF) y el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF). Después de la fosforilación del receptor la señal se transmite a la proteína H-Ras por medio de varias proteínas adaptadoras. A partir de H-Ras, se enciende una cascada de fosforilaciones en donde participan varias cinasas, y que culmina en la expresión de genes en el núcleo de la célula. Una de estas cinasas es la MAPK (MAPK del inglés: mitogen activated protein kinase), su fosforilación promueve su entrada al núcleo en donde fosforila

proteínas blanco que participan en el control de la transcripción de los protooncogenes *fos* y *jun* (4) (Fig. 3). En otros casos, dependiendo del estímulo extracelular, la señal se bifurca a partir de H-Ras. Uno de los caminos conduce específicamente a la expresión de *fos*, mientras que el otro camino conduce a la expresión de *jun*, en cuyo caso se activan las cinasas JNK, JNKK (JNKK del inglés: Jun amino terminal kinase kinase) y la MEKK (MEKK del inglés: mitogen extracellular kinase kinase). Esta última cinasa sirve como conexión entre ambas vías (4).

Más recientemente, se describió que las cinasas PKC, PKA (5) y JAK (JAK del inglés: Just another kinase) también forman parte de las vías de transducción que inducen la expresión de los protooncogenes mencionados (15) (Fig. 3); ésto al parecer, depende tanto de las señales extracelulares, como del propio sistema de estudio. La PKC y la PKA participan en la amplificación de

señales extracelulares que activan a receptores de siete regiones transmembranales acoplados a las proteínas G, mientras que la JAK amplifica la señal de los receptores activados por citocinas (15).

### PERSPECTIVAS

Si bien el factor de transcripción AP-1 interviene en el control de la expresión de una gran variedad de genes, como se describió en la Tabla I, todavía es controversial su relación directa con el control de la proliferación descontrolada asociada a la formación de tumores. Hace falta definir su participación precisa en las fases del ciclo celular, ya sea como un inductor o como un represor de la expresión de genes relevantes en la progresión del ciclo que culminan en la división celular. De la misma manera, falta por saber si los genes que regula, como los que aparecen en la Tabla I, son relevantes en la promoción del crecimiento normal o en el desarrollo de las neoplasias.

Agradezco al Dr. Alejandro Zentella Dehesa sus comentarios y sugerencias al manuscrito.

### REFERENCIAS

1. Rigg A y Sikora K (1997) Genetic prodrug activation therapy. *Mol Med Today* 3(8):359-365.
2. Karin M y Smeal T (1992) Control of transcription factors by signal transduction pathways: the beginning of the end. *Trends Biochem Sci.* 17:418-422.
3. Mitchell J P y Tjian R (1989) Transcriptional regulation in mammalian cells by sequence-specific DNA binding proteins. *Science* 25:371-378.
4. Karin M (1995) The regulation of AP-1 activity by mitogen-activated protein kinase. *J Biol Chem.* 270(28):16483-16486.
5. Hensket R (1994) *The oncogene handbook*. Editores: Harcourt Brace Academic Press Inc San Diego CA 92101 USA. p. 178-199 y 236-252.
6. Curran T y Franza R Jr (1988) Fos and Jun: the AP-1 connection. *Cell* 55:395-397.
7. Shreiber M, Baumann B, Cotten M, Angel P y Wagner E (1995) Fos is an essential component of the mammalian UV response. *EMBO J.* 14(21):5338-5349.
8. Sikora E, Grassilli, Bellesia E, Troiano L y Franceschi

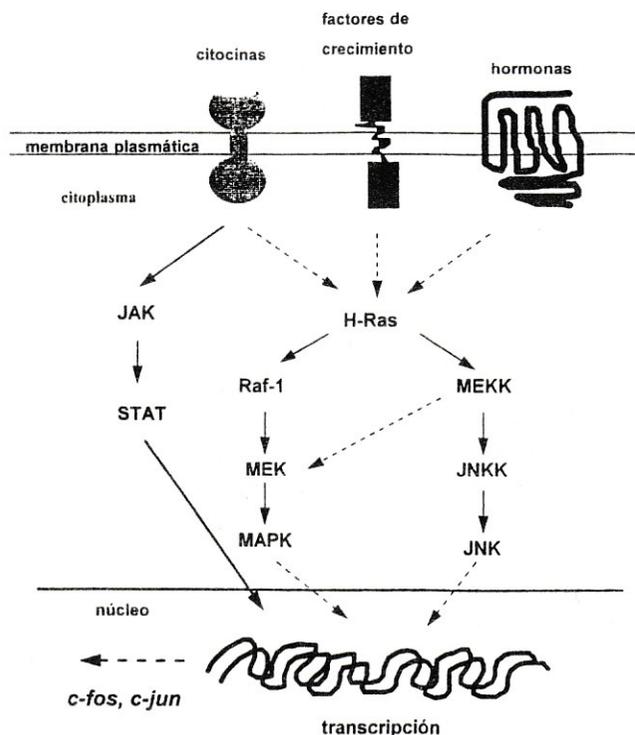


Fig. 3. Resumen de las vías de transducción que emplean los diversos tipos de receptores membranales para inducir la expresión de los protooncogenes *c-fos* y *c-jun* (4,5,15). Algunas de las proteínas que participan son: H-Ras, una proteína G pequeña de 21 kDa y las cinasas MEKK, MEK, MAPK, JNK, JNKK, FRK, JAK (descritas en el texto) y STAT, un factor activador de la transcripción. Las flechas continuas representan interacciones directas entre las proteínas, mientras que las discontinuas representan interacciones indirectas.

- C (1993) Studies of the relationship between cell proliferation and cell death. III. AP-1 DNA-binding activity during concanavalin A-induced proliferation or dexamethasone-induced apoptosis of rat thymocytes. *Biochem and Biophys Res Comm.* 192(2):386-391.
9. Pages, G y Stanley E R, LeGall M, Brunet A y Pouyssegur J (1995) The mouse p44 mitogenic activated protein kinase (extracellular signal regulated kinase-1) gene. Genomic organization and structure of the 5'-flanking regulatory region. *J Biol Chem.* 270(45):26986-26992.
  10. Nieman G, vanBesser H y Walter R D (1996) *Panagrellus redivirus* ornithine decarboxylase: structure of the gene, expression in *Escherichia coli* and characterization of the recombinant protein. *Biochem J.* 371(1):135-140.
  11. Gum R, Lengyel E, Juárez, J, Chen H, Sato H, Seiki M y Boyd D (1996) Stimulaton of 92-kDa gelatinase B promoter activity by ras is mitogen-activated protein kinase kinase 1-independent and requieres multiple transcription factor binding sites including closely spaced PEAD3/ets and AP-1 sequences. *J Biol Chem.* 271(18):10672-19680.
  12. Vanden Ent F M, Van Wijnen A J, Least T J, Bortell R y Syein J L, Lian J B y Stein G S (1995) Concerted control of multiple histone promoter factors during cell density inhibition of proliferation in osteosarcoma cells: reciprocal regulation of cell cycle-controlled and bone-related genes. *Cancer Res.* 53(10): 2399-2409.
  13. Aragés J, López- Rodríguez C, Corbi A, Gómez del Arco P, López Cabrera M, de Landázuri M O y Redondo J M (1996) Dithiocarbamates trigger diferentiation and induction of *CD11c* gene through AP-1 in the myeloid lineage. *J Biol Chem.* 271(18):10924-10931.
  14. Auwerx J y Sassone-Corsi P (1991) IP-1: a dominant inhibitor of Fos/Jun whose activity is modulated by phosphorylation. *Cell* 64:983-993.
  15. Laeman D W, Phisharody S, Flickinger T W, Commane M A, Schlessinger J, Kerr Y M, Levy D E y Stark G R (1996) Roles of JAKS in activation of STATs and stimulation of *c-fos* gene expression by epidermal growth factor. *Mol Cell Biol.* 16(1):369-375.

## INQUIETUD SOBRE LA PUNTUACIÓN EN LAS PUBLICACIONES CIENTÍFICAS DEL BEB

Dr José Víctor Calderón Salinas  
Editor en Jefe, BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

Por medio de la presente deseo manifestar mi inquietud de que en los últimos números de la revista las abreviaturas aparecen sin el punto al final, que como regla general se utiliza al emplear dichas abreviaturas. Si fuera usted tan amable de aclararme el porqué ya no se utilizan dichos puntos al final de las mismas. Son varias las personas con las cuales he comentado lo anterior y al parecer tenemos el mismo concepto de que al emplear una abreviatura se debe concluir con un punto. Sin más por el momento agradezco la atención que sirva prestarle a la presente.

Atentamente

QFB Rebeca Milán Chávez, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.

## SOBRE LOS PUNTOS DE LAS ABREVIATURAS

En una comunicación reciente de uno de nuestros amables lectores, se pedía una explicación al hecho de que en nuestra revista se eliminan los puntos de las abreviaturas. Como es de costumbre en estas situaciones, se recurrió a la búsqueda de los antecedentes del asunto, y se pudo reconstruir la historia de cómo surgió esta política editorial, y pasó a formar parte de las instrucciones a los colaboradores, donde se aprecia en los ejemplos que se incluyen en el punto I, inciso 3.

El antecedente más remoto de esta situación se originó mucho antes de que se fundara nuestra revista y se puede rastrear hasta el momento en que el *Experimental Cell Research* (Academic Press Inc), por razones relacionadas con el costo de edición de las revistas, llegó a la necesidad de solicitar a los colaboradores, que eliminaran el uso de los puntos, no sólo en las abreviaturas de las unidades de medición, que en algunas ocasiones resultan exageradas, como por ejemplo "m.s.n.m." o en "r.p.m.", sino también en las referencias bibliográficas donde, después de cada inicial del nombre de los autores, se usaba un punto. La revista mencionada incluyó un artículo, con el que

llevó a cabo la comparación de las dos maneras de editarlo, con puntos en todas las abreviaturas y sin ellos. De esta manera demostró que, al eliminar esos puntos, se reducía el espacio hasta en una página. Con base en esto, se presentaron los cálculos en el ahorro del costo de la impresión y por lo tanto de las suscripciones que, en definitiva, convencieron a los lectores de la bondad de la medida.

A falta del ejemplo mencionado, se incluye a continuación una muestra de lo que significa esto, en las referencias de un trabajo, en este caso, la cita 13 del artículo de López Marure y colaboradores publicado en el número anterior:

–Meyerson, M., Enders, G. H., Wu, C., Su, L. K., Gorka, C., Nelson, C., Harlow, E. y Tsai, L. H. (1992). A family of human cdc2-related protein kinases. *EMBO. J.* 11:2909-2917.

–Meyerson M, Enders G H, Wu C, Su L K, Gorka C, Nelson C, Harlow E y Tsai L H (1992). A family of human cdc2-related protein kinases. *EMBO J* 11:2909-2917.

Es evidente que cuando menos se ha reducido el espacio en unos 20 golpes, que representan aproximadamente el 30% de la capacidad del renglón, además de que la información no ha sido alterada.

Fue así como el Comité Editorial del BEB adoptó esa forma de manejar las abreviaturas y definió esta política para su edición. Desde luego que no sólo nuestra revista y la que originó esta medida usan esta forma de editar, también lo hacen, entre otras, las siguientes:

*American Journal of Hematology* (Alan R Liss), *American Journal of Medical Genetics* (Alan R Liss), *Annals of Internal Medicine* (American College of Physicians), *Blood* (American Society of Hematology), *Blut* (Springer Verlag), *Bulletin de Cancer* (Masson), *Cancer Genetics and Cytogenetics* (Elsevier), *Clinica Chimica Acta* (Elsevier), *Experimental Hematology*

(International Society for Experimental Hematology), *International Journal of Cell Cloning* (AlphaMed Press), *Immunopharmacology* (Elsevier), *Journal of Allergy and Clinical Immunology* (C V Mosby), *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* (Springer Verlag), *Journal Molecular Evolution* (Springer Verlag), *Medical Microbiology and Immunology* (Springer Verlag), *Journal of Neuroscience Research* (Alan R Liss), *Lancet* (The Lancet), *Transplantation Proceedings* (Grune & Stratton, Inc).

Esperamos no sólo haber respondido a la pregunta de nuestros lectores, sino también mostrado la lógica que apoya a esta política editorial.

Dr Jesús Manuel León Cázares  
Comité Editorial

# COMPATIBILIDAD EN EL CONTROL DEL CICLO CELULAR ENTRE NÚCLEO Y CITOPLASMA: UNA LIMITACIÓN EN LA CLONACIÓN DE MAMÍFEROS

## LA PRIMERA OVEJA CLONADA DIO A LUZ A UNA CRÍA NORMAL

A principios de este año, la oveja clonada Dolly dio a luz a una oveja perfectamente normal, completando así un ciclo de vida y marcando el final de una etapa más en el desarrollo del control genético sobre los animales de granja. Todo esto comenzó en febrero de 1997 cuando grupo del Dr. Ian Wilmut del Instituto Roslin en Edimburgo, Escocia, reportó por vez primera la posibilidad de clonar una oveja viable a partir del material genético contenido en el núcleo de una célula de la glándula mamaria de una oveja adulta (Wilmut Y, Schieke AE, McWhir J, Kind AJ y Campbell KHS (1997) Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 385:810-813).

## LA CLONACIÓN Y LA TRANSFERENCIA DE NÚCLEOS

El experimento consistió en transferir el núcleo de una célula no proliferante derivada de la ubre de

una oveja donadora a un ovocito maduro al que se le había retirado el núcleo (Fig. 1A). Anteriormente este mismo grupo ya había clonado ovejas a partir de núcleos derivados de líneas celulares derivadas de embriones ovinos. La transferencia de núcleos de una célula donadora a un ovocito al que se le ha retirado el núcleo (ovocito enucleado) es un procedimiento que se emplea en la clonación de vertebrados desde 1952, año en el que los Drs. Robert Briggs y Thomas King clonaron ranas transfiriendo núcleos de células embrionarias a ovocitos enucleados.

La clonación de anfibios y mamíferos basada en la transferencia de un núcleo somático a un ovocito demuestra, sin lugar a dudas, que la información genética en una célula somática no ha sido alterada significativamente, a pesar de no pertenecer a la línea germinal. Además, comprueba que la información almacenada en núcleos somáticos de un organismo adulto es capaz de dirigir un desarrollo em-

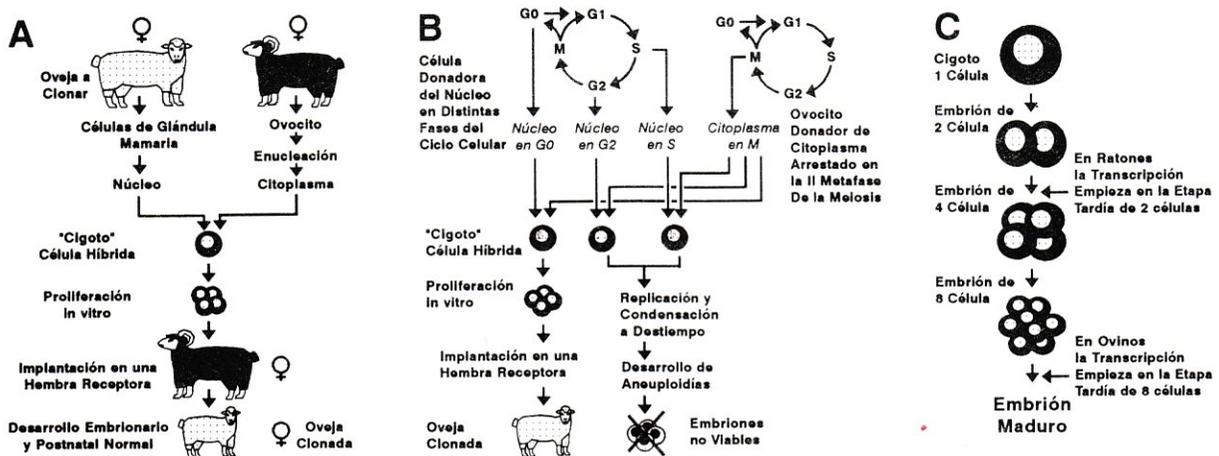


Figura 1. A) Procedimiento seguido en la clonación de la oveja Dolly. En este proceso la oveja donadora del núcleo somático es de una raza distinta de las ovejas donadoras del citoplasma de ovocito y las hembras receptoras de los embriones. La transferencia del núcleo a un ovocito enucleado genera una célula híbrida, que puede llegar a funcionar de manera equivalente a un cigoto generado por una fecundación normal. Cabe notar que en este procedimiento no se requiere de machos. B) Efecto que tiene la fase del ciclo celular de la que se tome el núcleo transferido a un ovocito enucleado sobre el desarrollo de un embrión. La única combinación productiva es aquella en la que tanto el núcleo como el ovocito enucleado provengan de células cuyo ciclo celular se ha detenido. C) Activación diferencial de la actividad transcripcional del embrión en distintas especies de mamíferos limita el tiempo que tienen los factores transcripcionales presentes en el citoplasma para reprogramar al núcleo somático y permitir que la célula híbrida funcione como un cigoto.

brionario y extrauterino normal, preservando incluso la capacidad de procrear a otro organismo. Este resultado resuelve la duda sobre la continuidad y la estabilidad del genoma a lo largo del desarrollo embrionario y postnatal de un organismo, estabilidad postulada por Spemann los años treinta. Hoy en día se considera que en los vertebrados superiores sólo en las células B y las células T, las regiones de los genes que codifican los determinantes antigénicos de las inmunoglobulinas y de los receptores de las células T se alteran por rearrreglos somáticos perdiendo información genética presente en las células embrionarias.

### ¿ PORQUÉ SE CLONÓ A UNA OVEJA Y NO OTRO MAMÍFERO ?

En todos los casos de clonación de vertebrados, el núcleo de los ovocitos detenidos en la segunda metafase es reemplazado por el núcleo diploide de una célula embrionaria o somática. Si esta célula híbrida logra restablecer coordinación funcional entre el núcleo y el citoplasma y se reactiva el ciclo celular embrionario, puede entonces comportarse como un cigoto y proliferar. Así se genera una masa de células embrionarias in vitro, que puede ser implantada en el útero de una hembra receptiva dando origen a un embrión de apariencia y desarrollo normal. ¿Porqué entonces no se han podido clonar ratones o bovinos empleando esta técnica?

Por el momento se han identificado al menos dos obstáculos: 1) La falta de coordinación funcional entre el citoplasma de un ovocito detenido en la segunda metafase de la meiosis y un núcleo proveniente de una célula proliferante en S o en G<sub>2</sub>, y 2) La prontitud con la que el embrión deja de depender de ARNs mensajeros maternos y pasa a depender de la transcripción del genoma del propio embrión.

#### 1. Incompatibilidad entre núcleo y citoplasma

En el caso de ratones se ha encontrado que existe una incompatibilidad entre el citoplasma de los ovocitos y los núcleos transferidos de células embrionarias o somáticas. Si bien se desconocen las bases bioquímicas de esta falta de compatibilidad entre citoplasma y núcleo, una manifestación de esta falta de comunicación es que el ADN del núcleo transplantado entra en una segunda ronda de replicación y presenta condensación prematura de sus cromosomas, implicando un funcionamiento

aberrante de la maquinaria que controla el ciclo celular. Esta replicación temprana, aunada a la condensación de cromosomas lleva a errores en la segregación balanceada de los cromosomas durante la metafase. En consecuencia, las células de estos embriones tienen un exceso o falta de cromosomas (aneuploidías), lo que desemboca en un desarrollo anormal y embriones no viables (Fig. 1B).

En el caso de las ovejas, el grupo del Dr. Wilmut había demostrado previamente que los núcleos de células embrionarias pueden dar origen a cigotos y embriones con desarrollo normal. Sin embargo, esto es sólo posible, si se obliga a las células embrionarias a interrumpir su proliferación in vitro, un estado difícil de alcanzar con células embrionarias. Por tal razón, para la clonación de ovejas los investigadores eligieron como donadora del núcleo a una célula somática cuya proliferación se hubiera detenido in vivo y que fuera fácil de mantener fuera del ciclo celular bajo condiciones de cultivo in vitro. Se escogió el núcleo de una célula de la glándula mamaria de un cultivo quiescente, cuando las células se encontraban en la fase G<sub>0</sub>. El resultado confirmó una buena coordinación cuando el núcleo proviene de una célula que ha interrumpido su proliferación (Fig. 1. B).

#### 2. Inicio de la expresión del genoma embrionario y el tiempo para reprogramar el genoma somático

Durante el ciclo celular embrionario (entre el estadio de 1 a 32 células) el embrión de los mamíferos deja de depender de los ARNs mensajeros maternos para depender de los propios. En ovinos, la expresión del genoma embrionario se inicia en el estadio de 8 a 16 células por lo que el ovocito con un núcleo de una célula de glándula mamaria tiene dos rondas de replicación para que los factores de transcripción presentes en el citoplasma del ovocito puedan reprogramar el genoma del núcleo de una célula somática y restablecer la coordinación entre el citoplasma y su nuevo núcleo (Fig. 1C). La reprogramación requerida por el genoma somático para que funcione como un genoma embrionario depende de la remoción de cualquier bloqueo en la expresión génica que se haya originado durante diferenciación de las células de la glándula mamaria, además de la capacidad de los factores de trans-

cripción citoplásmicos de llegar a los promotores de los genes necesarios para encender la transcripción embrionaria. En bovinos, murinos y humanos la expresión del genoma embrionario comienza en el estadio de 2 células, lo que reduce el tiempo para establecer esta compatibilidad funcional entre citoplasma y su nuevo núcleo. Esto representa una dificultad adicional en el procedimiento de clonación de mamíferos superiores. La clonación de ratones, bovinos y humanos aun debe esperar, al menos a la solución de los dos obstáculos mencionados, considerando que estas fueran las únicas dificultades relevantes.

### **EL FUTURO DE LA CLONACIÓN EN MAMÍFEROS**

Además de las implicaciones básicas con respecto a la continuidad de la estabilidad del genoma y la posibilidad de reprogramar el genoma de un célula somática, la clonación de la oveja Dolly y el nacimiento de una cría normal representan un gran avance para las industrias agropecuaria y farmacéutica. No obstante la posibilidad de reproducir con total fidelidad a organismos con las características productoras es factible, la complejidad técnica y los costos de este procedimiento hacen que su aplicación no sea previsible en el futuro inmediato para la propagación de ovejas con base en su capacidad productora de leche o de lana. Sin embargo, varias compañías biotecnológicas (como Genzyme Transgenic Corporation, PPL y Alexion Pharmaceutical), aplicando tecnología recombinante, han desarrollado animales transgénicos que producen, por ejemplo, proteínas recombinantes humanas en la leche de vacas, tales como proteínas anticoagulantes, proteínas nutricionales y proteínas implicadas en la adhesión tisular; incluso han logrado desarrollar cerdos con órganos como riñones o corazones que no son rechazados en procedimientos de transplantes en humanos. También se hacen esfuerzos no sólo por producir animales de granja con una alta productividad, sino además para producir animales transgénicos que porten genes de resis-

cia a enfermedades infecciosas. La propagación de este tipo de animales tendría grandes repercusiones económicas en las industrias agropecuaria y farmacéutica.

Desde sus inicios la humanidad ha manipulado genéticamente a una gran variedad de animales y plantas como parte del control sobre su entorno. La clonación es una etapa más en la manipulación genética moderna de los animales de granja que comenzó hace 50 años. Baste con recordar que en 1950 se estableció por vez primera un banco de semen bovino congelado, acoplado a la inseminación artificial, y que para 1985 el grupo del Dr. Ralph Brinster produjo el primer cerdo transgénico capaz de producir hormona de crecimiento humano.

Si bien la clonación elimina la recombinación y en consecuencia el vigor genético de una especie, es seguro que dado su impacto económico, tanto la producción de animales transgénicos como la clonación serán una realidad que veremos llegar en el futuro cercano. Del mismo modo, la potencial clonación de ratones, de otras especies de mamíferos y finalmente de humanos es en principio posible y sólo requiere de la solución de problemas técnicos. Fuera de las especies de granja, la clonación de ratones tendría un gran impacto sobre la investigación biomédica por tratarse de una especie genéticamente bien estudiada y por haber servido como modelo de muchos procesos del desarrollo normal de los mamíferos, sin mencionar los múltiples modelos murinos de enfermedades humanas que se han desarrollado. A fin de cuentas, el efecto benéfico o pernicioso que la clonación tenga sobre las especies dependerá de como se regulen y legislen sus aplicaciones.

Alejandro Zentella Dehesa  
Departamento de Biología Celular  
Instituto de Biología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México,  
UNAM

# 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 Bioquímica, 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

<b>Asociados numerarios</b> .....	<b>100.00 pesos (M.N.)</b>
<b>Asociados estudiantes</b> .....	<b>50.00 pesos (M.N.)</b>
<b>Asociados numerarios que radican fuera de México</b> ....	<b>10.00 dólares (US)</b>
 <b>Suscripción al BEB</b>	
<b>sin ser asociado</b> .....	<b>125.00 pesos (M.N.)</b>
<b>Si radica fuera de México</b> .....	<b>20.00 dólares (US)</b>

Deposite su pago a la cuenta Bancomer No. 1153813-9 llenando la ficha de depósito 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.

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.

Nombre Completo: \_\_\_\_\_

Asociado:       NUMERARIO                       ESTUDIANTE

Cuota Cubierta:     \$100 pesos     \$10 dólares     \$50 pesos

Nombramiento: \_\_\_\_\_

Profesor de Bioquímica:                       SI                       NO

Otra materia: \_\_\_\_\_

Carrera en la que imparte clase: \_\_\_\_\_

## ADSCRIPCIÓN

Departamento: \_\_\_\_\_

Facultad o Escuela: \_\_\_\_\_

Universidad: \_\_\_\_\_

## DIRECCIÓN DE LA INSTITUCIÓN

Calle y Número: \_\_\_\_\_

Colonia: \_\_\_\_\_

Ciudad o Estado: \_\_\_\_\_

Código Postal: \_\_\_\_\_ Apartado Postal: \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_ FAX: \_\_\_\_\_

Correo Electrónico: \_\_\_\_\_

## DOMICILIO PARTICULAR

Calle y Número: \_\_\_\_\_

Colonia: \_\_\_\_\_

Ciudad o Estado: \_\_\_\_\_

Código Postal: \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_

# XXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Bioquímica, A.C.

Mérida, Yucatán

Del 1 al 6 de noviembre de 1998

## PROGRAMA PRELIMINAR DEL CONGRESO

DOMINGO 1	HORARIO	LUNES 2	MARTES 3	MIÉRCOLES 4	JUEVES 5	VIERNES 6
	8:15-9:15 Conferencias Magistrales	Dra. Herminia Pasantes, IFC	Dr. Gabriel Guarneros, CINVESTAV	Dr. Diego González, IFC	Dr. Vianey Ortiz, CMN Siglo XXI	Dr. Andrés Hernández, UAM-I
	9:15-9:30	RECESO				
Inscripciones	9:30-11:00  Simposia Plenarios	Integración Neuronal Neurobiología Ranulfo Romo	Biología Mol. de Virus Patricio Gariglio	Bioquímica de Plantas Marina Gavilanes	Biol. Mol. Hongos Wilhelm Hansberg	Macromol. y Mol. Bioactiv. Alejandro Alagón
	11:00-11:30	CAFE				
	11:30-13:00  Simposia Plenarios	Bioquímica de los Canales Iónicos Agustín Guerrero	Regulación Genética David Romero	Bioética y clonación Juliana González	Educación en Biomedicina Alejandro Cravioto	Impacto de los contaminantes en los seres vivos Mariano Cebrian
	13:00-16:00	COMIDA				
	16:00-17:30  Simposia  Simultáneos	Regulación de la Expresión Genética I. Roberto Coria  Estructura y Función de Macro- moléculas I. Xavier Soberón  Transducción de Señales I. Ma. Teresa Sotomayor	Estructura y Función de Biomemb. I. Isabel Baeza  Biología Molecular de Plantas I. Rogelio Rodríguez  Bioq. y Fisiol. de Microorganismos I. Luis Servín	Desarrollo y Diferenciación celular I. Fdo. López Casillas Biol. Mol. de la interacción Planta Micro- organismo Mario Soberón  Inmunología I. Raúl Chávez	Metabolismo de Carbono y Nitrógeno I. Alicia González  Trasmisión Sináptica y Neurobiología I. Ana Ma. López Colomé  Fisicoquímica de Macromol. I. Mario Calcagno	
Inauguración	17:30-18:00	CAFE				
Conferencia Dr. Adolfo García Sáinz Premio Nal. de Ciencias y Ex Presidente de la SMB 17:00-18:00  Recepción de 18:15-19:00	18:00-20:00  Simposia  Simultáneos	Regulación de la Expresión Genética II. Carmen Gómez  Estructura y Función de Macromol. II. Ruy Pérez- Montfort  Transducción de Señales II. Ma. Eugenia Torres	Estructura y Función de las Biomemb. II. Rafael Moreno  Biología Molecular de Plantas II. Alejandra Covarrubias  Bioq. y Fisiol. de Microorganismos II. Jesús Caballero	Desarrollo y Diferenciación Celular II. Carmen Clapp  Bioquímica y Biol. Mol. de Parásitos Edda Sciutto  Inmunología II. Pascal Herión	Metabolismo de Carbono y Nitrógeno II. F. Bastarrachea  Trasmisión Sináptica y Neurobiología II. Carlos Aramburo  Fisicoquímica de Macromol. II. Arturo Rojo	
	20:00-21:30	Carteles NONES	Sesión de Negocios	Carteles PARES	CENA	

## CUOTA DE INSCRIPCION AL CONGRESO

Categoría	Antes de agosto 20, 1998:	Después:
Socios Numerarios	\$600.00	\$700.00
No socios (Congresistas)	\$700.00	\$800.00
Estudiantes Socios	\$300.00	\$400.00
Estudiantes*	\$350.00	\$450.00

\*Previa comprobación

## INDICACIONES PARA LA ELABORACION DEL RESUMEN

1. El resumen deberá ser escrito en una hoja con el formato siguiente:
2. La hoja deberá ser de color blanco y el marco de escritura tendrá las siguientes medidas: 11.8 de ancho y 17 cms. de altura. NO SE DEBERA DIBUJAR EL MARCO NI REBASARLO.
3. El título deberá ser escrito con mayúsculas.
4. El nombre de los autores estará subrayado.
5. Un renglón más abajo, empezar a escribir el texto del resumen a espacio sencillo.
6. En caso de haber figuras o tablas deben quedar dentro del marco del texto, en un recuadro de 5.5 cms. de alto por 6 de ancho.
7. El texto debe estar escrito en letra tipo Times Roman o Arial de 12 puntos o más. Entregar un original y tres copias del resumen.
8. Presentar fotocopia del comprobante para entregar el resumen.

## EJEMPLO:

→ 11.8 CMS

**ESTIMULACION DE LA GLUCONEOGENESIS POR LA ADENOSINA E INOSINA EN HEPATOCITOS DE RATA. A. Díaz-Cruz, R. Guinzberg, M. Zentella de Piña y E. Piña.**  
Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina, UNAM. México, D. F. 04510

La adenosina (ado) se considera un mensajero intracelular capaz de modular procesos fisiológicos. Se ha descrito que en el hígado, la ado, en concentraciones milimolares, inhibe la gluconeogénesis (Lund, 1975), y en concentraciones micromolares estimula la urcogénesis (Guinzberg, 1987). En este trabajo se estudió el efecto de la ado e inosina (ino), a concentraciones micromolares, sobre la síntesis de glucosa, a partir del lactato, en hepatocitos aislados. Los hepatocitos fueron incubados en Krebs-Ringer, bicarbonato, pH 7.4 con 10 mM de lactato, en presencia de los nucleósidos, hormonas, derivados de la ado y análogos de la ado. Tanto la ado como la ino estimularon la gluconeogénesis de una manera dosis dependiente con una  $K_a$   $7.5 \times 10^{-9}$  y  $9 \times 10^{-8}$ , respectivamente. Productos del catabolismo de la ado e ino no comparte su efecto gluconeogénico. La síntesis de glucosa, sorprendentemente, se encontró inhibida en hepatocitos incubados con glucagon o epinefrina más ado, pero no con ino. Con ado en presencia de NECA (adenosina-5' etilcarboxamida, análogo de la ado con efecto estimulador del sistema adenilato ciclasa), la estimulación fue más potente, mientras que con PIA (L-N-(fenilisopropil) adenosina...)

Ejemplo del tamaño de las gráficas

↑ 17 CMS

## PRESENTACION DE TRABAJOS:

Fecha límite de recepción de resúmenes: Agosto 20, 1998

Puede ser sometido cualquier trabajo científico inédito. Sólo se incorporarán al programa aquellos trabajos recibidos hasta el 20 de agosto de 1998, que estén acompañados por la forma de registro, el pago correspondiente de inscripción, que cubran las especificaciones solicitadas y hayan sido aceptados por el Comité Evaluador.

\*\*Se anexa formato de inscripción.

Los asistentes al congreso, sean autores o co-autores, requieren pagar su inscripción. Los co-autores que no asistan quedan eximidos de tal responsabilidad. Sólo los asistentes se harán acreedores al diploma de participación. Presentar comprobante de inscripción al momento de entregar el resumen o anexar copia fotostática si es enviado por correo.

## \*\*LOS TRABAJOS E INSCRIPCIONES DEBERAN SER ENVIADOS A LA OFICINA DE LA SOCIEDAD MEXICANA DE BIOQUIMICA EN:\*\*\*

SOCIEDAD MEXICANA DE BIOQUIMICA, A. C.  
Edificio del Instituto de Fisiología Celular, UNAM  
Apdo. Postal 70-600  
04510 México, D. F.  
(Tel: 622-56-03 o 04)

## SEDE DEL CONGRESO

La Sede del Congreso es el Hotel Fiesta Americana Mérida

## RESERVACION DEL HOTEL

Hemos preparado un "Paquete Congreso" del domingo 1 al viernes 6 de noviembre de 1998 en las siguientes categorías de hotel:

- "A" Hotel Primera Clase  
Hotel Fiesta Americana / sede del Congreso
- "B" Hotel Clase económica  
Holiday Inn  
(enfrente del Hotel sede)

Ambos hoteles se encuentran ubicados a 20 minutos del aeropuerto de Mérida.  
Hora de salida 13:00 \*

PAQUETE CONGRESO / CATEGORIA "A"  
(precios por persona)

Fiesta Americana Mérida (hotel sede)	
en habitación triple	\$1,729.00
en habitación doble	\$2,236.00
en habitación sencilla	\$3,874.00

El paquete congreso incluye:

- 5 noches de alojamiento
- 5 desayunos buffets
- 3 comidas o cenas buffet (distribuidas en los 5 días del congreso a elección del congresista).
- Impuestos y propinas

**PAQUETE CONGRESO / Categoría "B"**  
(precios por persona)

Holiday Inn Mérida en habitación triple	\$1,580.00
en habitación doble	\$2,037.50
en habitación sencilla	\$3,413.00

El paquete congreso incluye:

- 5 noches de hospedaje
- 5 desayunos buffet
- 3 comidas o cenas buffet (distribuidos en los 5 días, a elección del congresista)
- Impuestos o propinas

Para asegurar su reservación, se les solicita el depósito de pago correspondiente a la primera noche o al pago total de la estancia. No después del 30 de agosto de 1998. Toda reservación solicitada después de esta fecha, estará sujeta a disponibilidad de espacio debido al número limitado de habitaciones. Los congresistas que van a estar menos de 5 días, comunicarlo al Comité para hacer los arreglos.

- Las noches adicionales deberán ser solicitadas al hotel por anticipado y están sujetas a disponibilidad.

**REGISTRO Y PAGOS DE HOTEL:**

Para garantizar la reservación del hotel, aceptamos un depósito de \$580.00 (Quinientos ochenta pesos 00/100 MN) por persona a la Cuenta Maestra 0913098-2, Sucursal Plaza Laurel No. 06 Cuernavaca de Bancomer. Este depósito le será abonado a cuenta del hotel y las facturas serán expedidas por hotel al checar su salida.

En caso de querer compartir una habitación doble, favor de indicar el nombre del congresista con quien desea compartir, o de lo contrario, le será asignada una persona, para lo cual es necesario que nos indique su sexo. En caso de no encontrar un acompañante, nos reservamos el derecho de asignarle una habitación sencilla y cobrarle el suplemento correspondiente. Esto también se aplicará si el acompañante asignado cancela en un corto tiempo antes del congreso o no se presente.

Para estar registrado al congreso, es necesario que envíe el monto total por concepto de inscripción.

**CANCELACIONES:**

Aplicarán las siguientes políticas de cancelación: Cada cancelación está sujeta a cargos por concepto de comunicación y comisiones bancarias.

Antes del 9 de septiembre, reembolso total de los servicios solicitados.

Del 10 de septiembre al 2 de octubre, 1998, se reembolsará un 50% de los servicios solicitados.

A partir del 3 de octubre, no aplicará reembolso alguno. Todas las cancelaciones deberán recibirse por escrito. Todo reembolso se hará después del congreso.

Atentamente

EL COMITÉ ORGANIZADOR  
DEL XXII CONGRESO NACIONAL:

**MESA DIRECTIVA 1997-1999**

**Dr. Georges Dreyfus Cortés**  
Presidente

Instituto de Fisiología Celular, UNAM  
Apdo. Postal 70-600  
04510 México, D. F.  
Tel: (52) (5) 622-56-03 y 04  
Fax: (52) (5) 616-22-82  
Email: gdreyfusaifisiol.unam.mx

**Dr. Edmundo Chávez Cossío**  
Vicepresidente

Depto. de Bioquímica  
Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez"  
Juan Badiano No. 1, Intersección  
Periférico Sur y Viaducto Tlalpan  
14080 México, D. F.  
Tel: (52) (5) 573-2911 ext. 357 y 298  
Fax: 573-0926

**Dr. Heliodoro Celis Sandoval**  
Secretario Tesorero

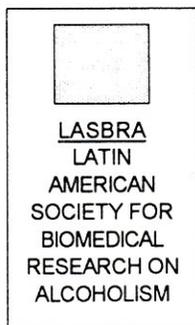
Depto. de Bioquímica  
Instituto de Fisiología Celular  
UNAM  
Apdo. Postal 70-243  
04510 México, D. F.  
Tel: 622-56-67  
Fax: 622-56-11

**Dr. Federico Martínez Montes**  
Subsecretario Tesorero

Depto. de Bioquímica  
Facultad de Medicina, UNAM  
Apdo. Postal 70-159  
04510 México, D. F.  
Tel: 623-21-68  
Fax: 616-24-19

**COMITE LOCAL:**

**Dra. Ma. Teresa Hernández Sotomayor**  
Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.  
Exhacienda Xcumpich  
Apdo. Postal 87, Cordemex 97310  
Mérida, Yucatán  
Tel: (99) 81-39-66  
Fax: (99) 81-39-00  
e.mail: thsacity.cicy.mx



## Sociedad Latinoamericana de Investigación Biomédica en Alcoholismo

(International Society for Biomedical Research on Alcoholism - ISBRA)

### IV Reunión Anual

Noviembre 26-28, 1998 – Córdoba (Argentina)

Tenemos el gusto de invitar a todos aquellos interesados en la investigación experimental sobre el alcohol y alcoholismo a participar en la **IV Reunión Anual de la Sociedad Latinoamericana de Investigación Biomédica en Alcoholismo (LASBRA)**, que tendrá lugar en la ciudad de Córdoba, Argentina, del 26 al 28 de noviembre de 1998.

Uno de los objetivos de LASBRA es servir como grupo coordinador para facilitar la comunicación y colaboración, en el campo del alcoholismo, entre investigadores de Latinoamérica.

Para su participación los interesados deberán establecer comunicación y enviar un resumen de su trabajo con la extensión de una página, al Comité Organizador:

Prof. Dr. Juan C. Molina – Instituto de Investigaciones Médicas Mercedes y Martín Ferreyra (CONICET), Av. Friuli 2434, (5016) Córdoba, Argentina, FAX (054-51) 695163. – [jmolina@immf.uncor.edu](mailto:jmolina@immf.uncor.edu)

Prof. Dr. Roberto A. Rovasio, Laboratorio de Biología Celular, F.C.E.F.N., Universidad Nacional de Córdoba. Av. V. Sarsfield 299, (5000) Córdoba, Argentina, FAX (054-51) 332097 – [rrovasio@gtwing.efn.uncor.edu](mailto:rrovasio@gtwing.efn.uncor.edu)

#### Informes en México con la representante de LASBRA:

Dra. Yolanda Saldaña Balmori, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. Apdo. Postal 70-159. México, 04510, D. F. MEXICO. FAX (5)616-2419. [balmori@servidor.unam.mx](mailto:balmori@servidor.unam.mx)

## A LOS LECTORES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

### DONATIVO ANUAL 1998

El BEB entra en su décimo quinto año de publicación y debido a las condiciones económicas imperantes en México, nos permitimos solicitarles de la manera más atenta, el envío de un donativo extracuotas de \$ 200.00 (docientos pesos) o bien \$20.00 US dólares, que hará posible continuar con la elaboración y distribución del volumen 16 de nuestro Boletín.

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

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

Atentamente  
*El Comité Editorial*

## ¿TE INTERESARÍA SER CORRESPONSAL DEL BEB EN TU LOCALIDAD?

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

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

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

## INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

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

### I ARTÍCULOS DE REVISIÓN

- 1) El artículo deberá enviarse en un disco para computadora, escrito en los procesadores de textos "Winword" o "Wordperfect", con una extensión máxima de 15 cuartillas a doble espacio (27 renglones por cuartilla y 70 caracteres por renglón). Éste deberá ir acompañado de tres impresiones del artículo.
- 2) Se deberá incluir un resumen en idioma español y uno en inglés, de más o menos diez renglones, que irán seguidos por conjuntos de tres a seis palabras clave.
- 3) Se aceptará un máximo de quince referencias, tanto específicas como de lecturas recomendadas, numeradas entre paréntesis en el texto de forma progresiva conforme vayan apareciendo. Cada una debe contener: Nombres de los autores, año de publicación entre paréntesis, título del artículo, nombre oficial de la revista abreviado como aparece en el Current Contents, número del volumen en cursivas y antecedido por dos puntos el número de la primera y últimas páginas, de acuerdo con lo que se muestra en el siguiente ejemplo:

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

Los artículos en libros deberán citarse de la siguiente forma:

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

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

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

- 4) Se aceptarán como máximo seis ilustraciones, figuras más tablas, las cuales deberán estar dibujadas sobre papel albanene con tinta china o bien impresiones láser o presentarse como fotografías en blanco y negro sobre papel brillante, cuya localización deberá estar señalada en el texto. La limitación en el número de figuras,

de tablas y de referencias, obliga a los autores a que se seleccionen aquellas que sean realmente importantes e informativas. Las figuras se deberán numerar con arábigos y las tablas con romanos. Las leyendas y los pies de figuras se deberán adicionar en una hoja aparte. Se deberá considerar que las figuras y las tablas se reducirán de tamaño, aproximadamente a la mitad o a un cuarto de las dimensiones de una hoja carta; las letras y números más pequeños no deben ser menores a los dos milímetros. Las tablas se deberán presentar conforme alguna de las publicadas en los números de 1995.

- 5) Se deberá evitar hasta donde sea posible los pies de páginas. Las abreviaturas poco comunes que se utilicen en el texto deberán enlistarse en la primera página.
- 6) Se recomienda revisar los números recientes para familiarizarse con el estilo de la revista.

### II. OTRAS COMUNICACIONES

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

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

**El disco y las tres copias de los manuscritos se deberán enviar al Boletín de Educación Bioquímica, Apartado Postal 70-281, México 04510, DF o bien por intermedio del corresponsal del BEB en su localidad.**

**CONTENIDO**

**EDITORIAL**

LA ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN  
CIENTÍFICA EN HUMANOS  
José Víctor Calderón Salinas ..... 101

**ARTÍCULOS**

APOPTOSIS Y MUERTE CELULAR  
PROGRAMADA  
Erika Olivia Gómez González  
y Alejandro Zentella Dehesa ..... 105

LOS CAROTENOIDES EN LA SALUD  
Romina Rodríguez y Cols ..... 115

AP-1, UN FACTOR DE  
TRANSCRIPCIÓN CLÁSICO  
Rocío Alcántara Hernández ..... 123

**OTRAS COMUNICACIONES**

INQUIETUD SOBRE LA PUNTUACIÓN  
EN LAS PUBLICACIONES  
CIENTÍFICAS DEL BEB  
Rebeca Milán Chávez ..... 130

SOBRE LOS PUNTOS  
DE LAS ABREVIATURAS  
Dr J M León Cázares ..... 130

COMPATIBILIDAD EN EL CONTROL  
DEL CICLO CELULAR ENTRE NÚCLEO  
Y CITOPLASMA: UNA LIMITACIÓN  
EN LA CLONACIÓN DE MAMÍFEROS  
Alejandro Zentella Dehesa ..... 132

**CONVOCATORIAS**

ACTUALIZACIÓN DE MEMBRESÍA A  
LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE  
PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A C ..... 135

XXII CONGRESO NACIONAL  
DE LA SOCIEDAD MEXICANA  
DE BIOQUÍMICA, A C ..... 137

SOCIEDAD LATINOAMERICANA  
DE ACTUALIZACIÓN BIOMÉDICA  
EN ALCOHOLISMO ..... 140

A LOS LECTORES DEL BOLETÍN  
DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA.  
Donativo Anual ..... 140

¿TE INTERESARÍA SER CORRESPONSAL  
DEL BEB EN TU LOCALIDAD? ..... 140

**INSTRUCCIONES PARA LOS  
COLABORADORES DEL BOLETÍN  
DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA ..... 142**