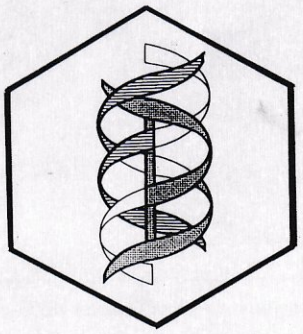
ISSN-0187/294X

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).

Vol. 17 No. 4 DICIEMBRE 1998

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 MONTIEL AGUIRRE
Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

YOLANDA SALDAÑA BALMORI
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

ALEJANDRO ZENTELLA DEHESA
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

EDITOR EN JEFE

JOSÉ VÍCTOR CALDERÓN SALINAS
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados
Instituto Politécnico Nacional

COORDINADOR DE CORRESPONSALES

SERGIO SÁNCHEZ ESQUIVEL
Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

EDITORES ASOCIADOS

MA TERESA ELIZABETH FLORES RODRÍGUEZ
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 70-281, Coyoacán, CP 04510 México, D F. Certificados de: Licitud de Título No 6703; Licitud de Contenido No 6989; No de expediente 1/432"92"/8443; Reserva al título en derecho de autor No 6703. Publicación incluida por el Centro de Información Científica y Humanística de la Universidad Nacional Autónoma de México en la base de datos **PERIÓDICA** (Indice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias). Impresa en los talleres Editorial Uno, SA de CV, 1er Retorno de Correggio No 12, México 03720 DF; tiraje 1,300 ejemplares. Distribuidor: Servicio Postal Mexicano, Reg No PP-PROV-DF-119-95; UNAM-Depto de Bioquímica y Facultad de Medicina.

EDITORIAL

LA NUEVA UNIVERSIDAD

Desde hace varios rectores se puede percibir un proceso saludable de cambio de operación de la UNAM. Así, recuerdo documentos valiosísimos como "Fortaleza y Debilidad de la UNAM", del Rector Carpizo; la profundización académica y universitaria que orquestó el Rector Sarukhán; la instalación de los Consejos Académicos de Área, en donde por fin se estableció un foro para el diálogo entre institutos y facultades; la sesión del Consejo Universitario del 30 de abril de 1997, en donde se dio solución definitiva al problema de las preparatorias populares y se reglamentó el "Pase Reglamentado" y otras decisiones y eventos que me ha tocado vivir o constatar últimamente.

La circunstancia actual de la gestión del doctor Barnés y las restricciones económicas de nuestro país, hacen imperativo acelerar otros cambios trascendentales para la UNAM. Al que me refiero en esta ocasión es a la redefinición del rol del investigador universitario.

Por fin, en la sesión del Consejo Técnico de la Investigación Científica del pasado 5 de marzo en Cuernavaca, percibí con claridad la visión del rector: el cabal cumplimiento del rol del investigador no termina en la publicación científica de alto nivel, requiere adicionalmente que el investigador comparta sus conocimientos y su conducta inquisitiva, suspicaz y crítica con los jóvenes estudiantes universitarios. Y requiere, además, de un compromiso con extender el conocimiento y la doctrina científicos a la sociedad, intentando que el conocimiento aporte a la solución de un problema concreto, y la doctrina científica contribuya a civilizar este país.

Por fin lo entendí con lucidez: el Rector busca una nueva universidad en las personas y quehaceres de los universitarios. Un verdadero cambio radical en el centro mismo de la universidad: el personal académico de carrera.

Este desafío que no podemos soslayar, no sólo por argumentos de economía y eficiencia, que los hay y son válidos e importantes, sino por la invitación a ascender a un plano mayor de conciencia y responsabilidad universitaria. El Rector nos exhorta a aspirar a una vida académica más plena de aventuras y hallazgos, propiciada por la necesidad de un saber más amplio y profundo para poder enseñar, y por el acercamiento del investigador a la enorme vitalidad y talento de los jóvenes universitarios.

Por fin entiendo con claridad la invitación del Rector, y en ésta se las transfiero y endoso lo mejor que puedo para su consideración y adopción.

Anticipo que habrá suspicacias, inercias, incredulidades, dado lo arraigado que está nuestra conducta especializada de investigador. También sé que tomará tiempo. Confío, sin embargo, en que si ustedes meditan sobre este tema y recuerdan sus experiencias en esta universidad cuando eran estudiantes y en otras universidades del mundo, a las que fueron a formarse, y objetivamente consideran el exhorto y los tiempos del doctor Barnés, encontrarán sus razones y compartirán sus aspiraciones.

Carlos Larralde
Instituto de Investigaciones
Biomédicas de la UNAM

EL TRANSPORTE DE COLESTEROL EN LOS TEJIDOS ESTEROIDOGÉNICOS

Federico Martínez, María Teresa Espinosa-García, Guadalupe Maldonado, Cecilia García-Pérez, Juana Navarrete, Rebeca Milán, Oscar Flores-Herrera y Aida Uribe. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM. AP 70-159, México, DF, CP 04510.

RESUMEN

En los tejidos esteroidogénicos, la síntesis de pregnenolona a partir de colesterol es esencial para la producción de las demás hormonas esteroideas. Se han descrito varios mecanismos para transportar el colesterol del citosol a las mitocondrias, que es el sitio de su transformación. Se ha propuesto la participación de iones y nucleótidos, del citoesqueleto y de proteínas. De entre todos ellos, el sistema mediado por la proteína StAR ha demostrado ser fundamental en la esteroidogénesis en gónadas y suprarrenales, aunque no se conoce el mecanismo por el cual transporta al colesterol hacia las mitocondrias y entre sus membranas. Este sistema no es universal, ya que la placenta humana sintetiza niveles elevados de progesterona y no expresa la proteína StAR.

PALABRAS CLAVE: Mitocondria, transporte de colesterol, esteroidogénesis, placenta.

ABSTRACT

Pregnenolone synthesis from cholesterol in steroidogenic tissues is essential for the synthesis of other steroid hormones. Several mechanisms have been described for the transport of cholesterol from cytosol to mitochondria, which is the site for cholesterol transformation. A number of different elements including ions and nucleotides, the cytoskeleton and proteins, have been proposed to participate. Among these, the mechanism involving the protein StAR has been demonstrated to be essential for the steroidogenesis in gonads and adrenals cells, although the molecular mechanism for the transfer of cholesterol into the mitochondria and between its membranes is not known. This mechanism is not universal since the human placenta, which synthesize high levels of progesterone, does not express the StAR protein.

KEY WORDS: Mitochondria, cholesterol transport, steroidogenesis, placenta.

INTRODUCCIÓN

El colesterol es necesario para el desarrollo, crecimiento y duplicación de las células de los mamíferos. Su concentración celular está regulada y definida de manera estricta (1) ya que no se distribuye aleatoriamente en las diferentes membranas celulares y cambios en sus niveles normales producen daño.

La mayoría de las células sintetizan el colesterol necesario para realizar sus funciones. Sin embargo, en la membrana plasmática existen receptores específicos para lipoproteínas de baja densidad, permitiendo a ciertas células incorporar el colesterol externo. Sin importar el camino que la célula adopte para satisfacer sus necesidades de colesterol, éste, una vez dentro de la célula, sigue una distribución rigurosa. Así, se ha demostrado que las diferentes membranas celulares contienen diferentes concentraciones de colesterol (2); por ejemplo, la membrana plasmática del hepatocito tiene 30 μg/mg de proteína, mientras que las mitocondrias contienen entre 3 a 5 μg/mg. Actualmente se desconoce el mecanismo por el cual la célula distribuye de esta manera el colesterol.

El transporte de colesterol en los tejidos esteroidogénicos adquiere relevancia, ya que de su transformación a hormonas esteroideas dependen muchas funciones orgánicas. Tal es el caso de las glándulas suprarrenales, los ovarios, los testículos y la placenta. Se ha observado que las mitocondrias de las glándulas suprarrenales tienen elevadas concentraciones de colesterol. Esto permite suponer que el alto contenido de colesterol se debe en parte a la función que realizan. Sin embargo, la pregunta es: ¿cómo se transporta el colesterol del citoplasma a las mitocondrias y dentro de sus membranas?

Las glándulas suprarrenales poseen almacenes de lípidos en el citoplasma en forma de pequeñas gotas lipídicas. En estos depósitos existe un 90% de

ésteres de colesterol. En el momento en que la célula recibe un estímulo a través de la ACTH, se activan varios pasos para movilizar al colesterol de sus depósitos hacia las mitocondrias (Figura 1).

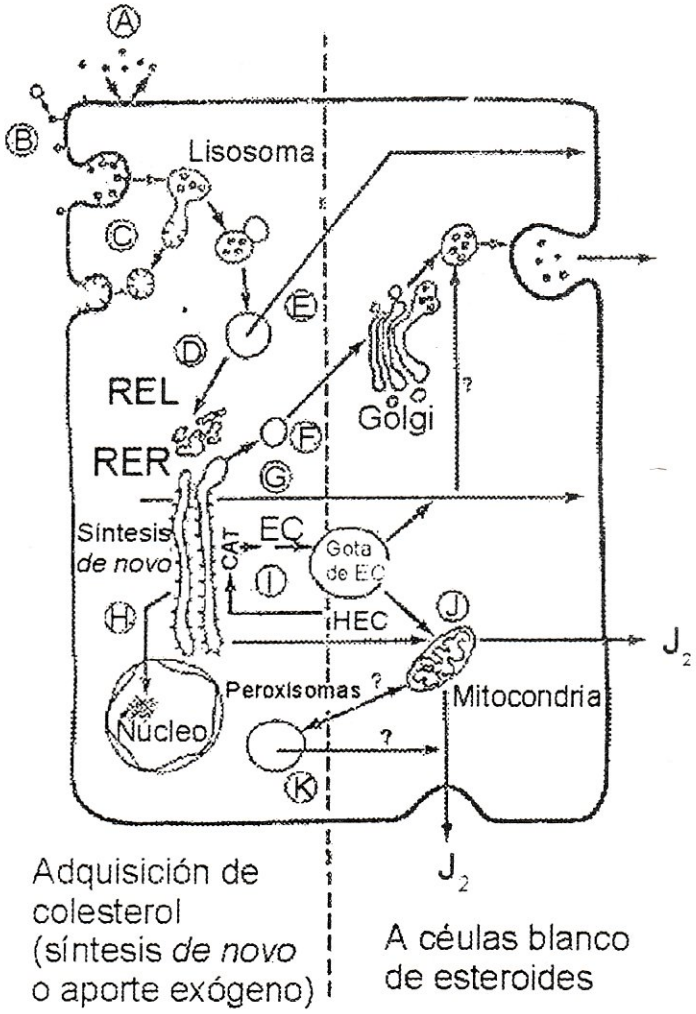


Figura 1. Esquema general de la estimulación de las células de las suprarrenales por ACTH. Las letras indican los diferentes mecanismos de movilización y uso del colesterol. A. intercambio en la membrana plasmática. B. receptores a lipoproteinas. C. exocitosis. E. indica el paso de colesterol a las membranas biológicas. D. transferencia de colesterol al retículo endoplásmico liso. (REL). F. transferencia de colesterol del retículo endoplásmico rugoso (RER) al aparato de Golgi. G. transferencia de colesterol hacia la membrana plasmática. H. indica la síntesis de novo en el RER. I. se refiere a la esterificación del colesterol por la colesterol acil transferasa (CAT), para formar los ésteres de colesterol (EC) y pasarlos a las gotas de grasa. J. muestra el uso del colesterol en las mitocondrias para transformarlo en hormonas esteroides, las cuales fluyen de la célula por posibles rutas diferentes (J_1 y J_2). K. se refiere al posible papel que juegan los peroxisomas en el metabolismo del colesterol. Tomado de Billheimer et al., 1990, Subcelullar Biochemistry, Vol. 16, pp. 302-331.

Las mitocondrias son el sito de transformación del colesterol en pregnenolona (P5), el principal producto para la síntesis de otras hormonas esteroideas. Al igual que otras mitocondrias, las de los tejidos esteroidogénicos tiene la cadena respiratoria clásica acoplada a la síntesis de ATP y además otra cadena que se acopla al citocromo P450scc. Esta cadena esta constituida por la adrenedoxina reductasa, la adrenedoxina y el citocromo P450scc, el cual tiene una función de oxidasa mixta.

Se observó que al incrementar la concentración de P5 en la matriz mitocondrial había inhibición de la actividad del citocromo P450scc, sugiriendo que la P5 regula su propia síntesis al provocar una inhibición por producto. La P5 se acumula en la matriz ya que para su posterior transformación en otras hormonas esteroideas requiere ser transportada hacia el citoplasma para su transformación en progesterona (P4) o en dehidrocortisona (DOC) (el complejo 3β-hidroxiesteroidedeshidrogenasa-Δ^{4-5}-isomerasa la transforma en progesterona, P4). La DOC regresa a la mitocondria para su transformación en corticosterona por la acción del citocromo P450-11β hidroxilasa. Este paso es necesario, ya que el citocromo P450-11β se localiza en la membrana interna de las mitocondrias de las suprarrenales. A diferencia de este tejido, en la placenta humana la P5 se transforma en P4 dentro de la mitocondria, ya que el complejo de la 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa-Δ^{4-5}-isomerasa se localiza en la matriz, aunque también se ha encontrado su actividad en el citoplasma.

En las suprarrenales, la ACTH estimula la síntesis de pregnenolona a través de la producción de AMPc, su segundo mensajero. El AMPc activa varios procesos (Figura 1). Primero, el colesterol es liberado de las gotas lipídicas y se transporta hacia la mitocondria. Estas gotas tienen el 90% de su colesterol en forma esterificada, usualmente a ácido araquidónico. La estimulación por ACTH disminuye significativamente los niveles de colesterol de las células de las glándulas suprarrenales y, posterior a su estimulación, los niveles de colesterol libre se mantienen constantes mientras que los ésteres de colesterol disminuyen. Esto se debe a que el AMPc activa a estearasas neutras de ésteres

de colesterol. La administración de cicloheximida (CHX) a ratas, previa a la estimulación de la esteroidogénesis por ACTH, muestra una disminución de los niveles de colesterol libre.

Se ha descrito que la transferencia de colesterol libre hacia la mitocondria se realiza por proteínas. Sin embargo, Hall y Almahbobi (12) han sugerido que el citoesqueleto es muy importante ya que observó una asociación entre el citoesqueleto y las mitocondrias, la cual se acentúa al administrar ACTH, permitiendo que el colesterol pase directamente del depósito lipídico a la mitocondria sin intermediarios proteicos (3). Sin importar el camino por el cual el colesterol llegue a la mitocondria, una vez ahí, el colesterol debe ser depositado en la membrana externa y luego pasar a la interna, para posteriormente ser capturado por el citocromo P450scc y transformado en P5.

POSIBLES FACTORES NO PROTEICOS QUE PARTICIPAN EN LA TRANSFERENCIA DEL COLESTEROL A LAS MITOCONDRIAS

Se ha sugerido que algunos factores de origen no proteico podrían estar relacionados con el transporte de colesterol hacia las mitocondrias. Aunque estos factores no se han estudiado de manera conjunta, será necesario contemplar su posible participación dentro de un esquema general y concertado asociado a proteínas.

CALCIO Y NUCLEÓTIDOS

Se conoce que el calcio es un catión que participa activamente en la regulación del metabolismo de varios tejidos, en particular el calcio modula la actividad de algunas deshidrogenasas mitocondriales; sin embargo, su efecto en varios fenómenos de membrana ha tomado relevancia, sobre todo en el sentido de su capacidad para inducir y facilitar la fusión de membranas, además de estimular la síntesis de hormonas en los tejidos esteroidogénicos.

Se ha demostrado que en los procesos de fusión de membranas, tanto artificiales como naturales, es necesario el calcio. Esto se debe a que muy probablemente el calcio bloquea las cargas de superficie de los fosfolípidos (4) produciendo rigidez, dominios cristalinos de fosfolípidos y una separación de fase lateral de los fosfolípidos ácidos membranales. Se propone que la formación de tales dominios crea una membrana poco estable, altamente permeable y susceptible a fusionarse con otra membrana con una perturbación similar.

En el caso de las suprarrenales, se ha sugerido que en las mitocondrias el calcio efecta la actividad de la enzima málica, o bien, la actividad de las enzimas mitocondriales que transforman el colesterol, ya que la adición de rojo de rutenio, un inhibidor del transporte de calcio en la mitocondria, inhibe la secreción de cortisol inducida por calcio en células permeabilizadas de las suprarrenales de bovino. El incremento en la concentración libre de calcio en el citosol, como producto de estímulo hormonal, puede activar a la fosfolipasa A2, la cual libera lisoderivados capaces de inducir fusión de membranas. También se ha propuesto la posibilidad de que el calcio participe en la transformación de las membranas mitocondriales para facilitar su fusión y formar puntos de unión. En este modelo, se sugiere que el calcio incrementa la formación de puntos de unión a través de los cuales el colesterol se transporta de la membrana externa hacia la interna, favoreciendo su disposición hacia el citocromo P450scc e incrementando la esteroidogénesis.

Recientemente se estudió el efecto del calcio y del GTP sobre la síntesis de progesterona *in vitro* en mitocondrias de glándulas suprarrenales de rata. Se observó que el transporte del colesterol exógeno hacia las mitocondrias puede ser significativamente estimulado por niveles fisiológicos de calcio. Los autores proponen que el calcio activa los puntos de unión entre la membrana externa e interna mitocondrial, lo cual facilita el transporte de colesterol. También proponen que el efecto del calcio puede ser a dos niveles, uno en el metabolismo exógeno del colesterol, el cual no se bloquea con la adición de rojo de rutenio, y otro insensible al rojo de rutenio, que representa el metabolismo endógeno del colesterol.

Otro factor involucrado en la esteroidogénesis es el GTP, el cual ha sido propuesto como modulador en el transporte del colesterol en las mitocondrias de las glándulas suprarrenales. Con base en el papel que tiene el GTP de manera general sobre algunos procesos de transporte vectorial en la células, se demostró (5) que en las mitocondrias aisladas de las glándulas suprarrenales el GTP incrementa la síntesis de pregnenolona, un efecto que desaparece al romper las mitocondrias por

sonicación. Los autores sugirieron que el estado activado inducido por el GTP fue reversible después de la hidrólisis del GTP a través de una GTPasa mitocondrial, permitiendo que la síntesis de P5 regrese a sus niveles basales. Por otro lado, observaron que el efecto era especifico para el GTP, ya que la presencia de otros nucleótidos no estimuló la transformación de colesterol en P5.

Los mismos autores (5) determinaron si el efecto del GTP estaba asociado con la actividad de las proteínas descritas para la transferencia de colesterol a la mitocondria, como son la proteína aguda esteroidogénica (SAP) y la proteína acarreadora de esteroles (SCP_2). Observaron que la SAP carece de cualquier efecto estimulante sobre la esteroidogénesis, mientras que en combinación con el GTP, la síntesis de P5 incrementó. De igual manera, la SCP_2 estimuló eficientemente la transformación de colesterol, un efecto que aumentó al adicionar el GTP. Sin embargo, los resultados se interpretaron como vías diferentes de acción, sugiriendo que la SCP_2 actúa más bien movilizando colesterol de ciertos sitios extramitocondriales y dejando al sustrato accesible para ser translocado en la mitocondria. Los autores proponen que el GTP y la SAP actúan sinérgicamente afectando la maquinaria del transporte de colesterol. Resultados similares fueron observados por otros autores, en donde el efecto producido por el GTP fue bloqueado por la adición de GTPγS, permitiéndoles concluir que la hidrólisis del GTP es necesaria para ejercer su efecto sobre la esteroidogénesis.

Se describió la presencia de proteínas fijadoras de GTP en mitocondrias de la corteza suprarrenal de bovino empleando técnicas de fotoafinidad marcando con [γ^{32}P]GTP. Se identificó una proteína de 45 kDa en la membrana externa mitocondrial y una de 19 kDa en los puntos de unión (6). Aunque los resultados parecen indicar que estas proteínas no son contaminantes, será necesario hacer más estudios y determinar el papel del GTP y de estas proteínas en la esteroidogénesis.

LÍPIDOS Y LOS PUNTOS DE UNIÓN

La unión del colesterol a vesículas o partículas membranales requiere cierta composición de fosfolípidos. De igual manera, las membranas celulares también muestran variaciones en su composición de fosfolípidos, la cual parece correlacionar con la concentración de colesterol. Se observó que la ACTH estimuló una síntesis neta muy rápida de fosfolípidos, al parecer como un efecto secundario sobre la síntesis *de novo* del ácido fosfatídico, favoreciendo la producción de fosfatidilinositol y fosfatidiletanolamina, los cuales incrementan su concentración en la membrana externa mitocondrial. Estos datos, junto con el enriquecimiento de cardiolipina en los puntos de unión de las membranas mitocondriales (7), sugieren que esta unión podría mediar la transferencia de colesterol a través de la formación de estructuras de fase reversa (H_{II}) en la membrana. Se ha observado que el cambio en algunos factores físicos y químicos podría favorecer la formación de la fase hexagonal membranal, por la cual el colesterol podría ser transportado de la membrana externa a la interna mitocondrial. La fase H_{II} aparece cuando:

1. incrementa la temperatura,
2. disminuye el contenido de agua,
3. incrementa el contenido de colesterol,
4. disminuye el tamaño de los grupos funcionales,
5. disminuye el tamaño de las cabezas polares,
6. aumenta la longitud de las cadenas de los ácidos grasos,
7. incrementa la insaturación de los acilos.

También propusieron que el calcio y la poli-lisina son capaces de incrementar la fase H_{II}, tal vez cancelando las cargas de los fosfolípidos y favoreciendo la unión de las membranas mitocondriales. Según este modelo, el colesterol podría, por sí mismo, ser el regulador de la síntesis de pregnenolona. En este sentido, se demostró que el colesterol de la membrana interna era utilizado rápida y eficientemente durante la estimulación de la esteroidogénesis en las mitocondrias de las glándulas suprarrenales de bovino. Sin embargo, se ha observado que el enriquecimiento artificial de colesterol en la membrana plasmática de las células testiculares Y-1, reflejado como un incremento en la relación colesterol/fosfolípido (C/PL), resultó en un incremento del colesterol en la membrana interna mitocondrial, lo que permitió que la acción de la ACTH o del AMPc sobre la síntesis de P5 fuera mayor en las células con alta relación C/PL que en las que contenían una menor relación (8). Con estos datos, los autores propusieron que el transporte de colesterol en las mitocondrias de las glándulas

suprarrenales se regula al menos por dos procesos, uno que proporciona al colesterol, el cual puede saturar este sistema de transporte, y otro(s) mecanismos activados por el AMPc que es capaz de estimular el transporte por arriba de sus niveles máximos producidos sólo por la alta concentración de colesterol y el cual requiere de la síntesis de proteínas *de novo*.

Freeman (9) sugirió que el colesterol para la esteroidogénesis en las células de Leydig MA-10 no es el que se localiza en las mitocondrias, a pesar de que su relación C/PL es mayor que en la membrana plasmática, ya que sus resultados mostraron que el colesterol para la síntesis de P5 proviene de la membrana plasmática. Aunque las mitocondrias tuvieron una alta concentración de colesterol, éste fue inerte para sintetizar P5, mientras que el colesterol de la membrana plasmática fue incorporado en la síntesis de esteroides sin llegar a equilibrarse con la poza de las mitocondrias. El autor concluyó que el colesterol deberá ingresar a la mitocondria por una región especializada, probablemente los puntos de unión.

Se ha postulado que los cambios en el volumen mitocondrial podrían estar relacionados con cambios morfológicos y físicos, incrementando el área de contacto entre las membranas mitocondriales. Así, Jefcoate y cols. (10) sugirieron que los puntos de unión se podrían favorecer por la acción de la ACTH (Figura 2), ya sea induciendo la síntesis de

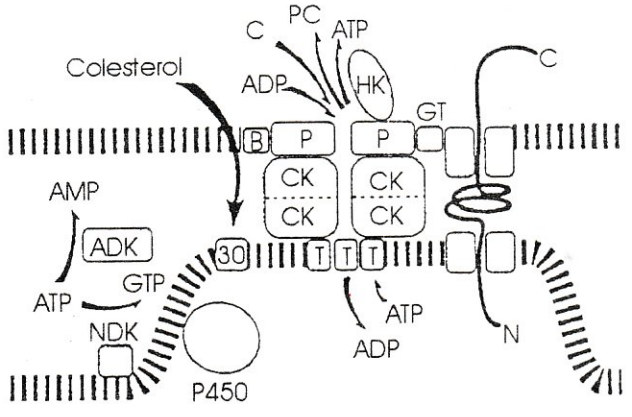


Figura 2. Hipótesis sobre la composición de los puntos de unión mitocondrial. Las abreviaturas son las siguientes: CK = creatina cinasa, ADK = adenilato cinasa, NDK = nucleotidodifosfato cinasa, P = porina, T = adenín nucleótido translocasa, HK = hexocinasa, B = receptor periférico a benzodiacepinas, GT = glutatión transferasa, C = creatina, CP = fosfocreatina.

una proteína que una a las membranas, o bien por cambios de volumen, incrementando éstos en tamaño y número, lo cual podría facilitar la transferencia pasiva de colesterol de la membrana externa rica en colesterol hacia la membrana interna deficiente de éste. Cuando se determinó el volumen de mitocondrias de ratas estresadas y estresadas en presencia de CHX, se observó un incremento del volumen de la matriz mitocondrial de aquellas que fueron expuestas al estrés, mientras que en las ratas tratadas con estrés más CHX no mostraron cambios en el volumen de la matriz respecto al control (11). En ambos casos, el volumen mitocondrial total fue el mismo, lo que sugiere que el espacio intermembranal disminuyó. Estos resultados permitieron proponer que el cambio de volumen mitocondrial podría ser un mecanismo de acción diferente al de la ACTH, aunque es necesario mayor trabajo experimental para esclarecer el papel del cambio de volumen en este fenómeno.

EL CITOESQUELETO

Aunque el colesterol es el mayor precursor en la síntesis de las hormonas esteroideas, no debemos olvidar que los tejidos requieren de su presencia en las membranas para permitir que éstas funcionen adecuadamente. En las suprarrenales, el colesterol se obtiene a través de los receptores para las LDL, que después se transporta hacia las mitocondrias. La participación del citoesqueleto y de los microtúbulos se propusieron en este evento, ya que la citocalasina B, un agente que evita la formación de microfilamentos, y la vinblastina, la cual evita la asociación de los microtúbulos, impidieron la síntesis de hormonas esteroideas en células testiculares, pero no en las mitocondrias aisladas, siendo la vinblastina el agente más eficiente en la inhibición de la esteroidogénesis.

El efecto inhibitorio sobre la esteroidogénesis también se observó cuando en el medio estuvieron presentes anticuerpos anti-actina, sugiriendo que la respuesta a la ACTH requiere de una poza de (G)-actina monomérica que puede ser polimerizada a (F)-actina. Al parecer, la ACTH reorganiza el citoesqueleto y cambia la forma de la célula, lo cual permitiría proponer que el transporte de colesterol involucra la reorganización y contracción de los microfilamentos de actina de tal manera que produce el movimiento de las gotas lipídicas hacia la

mitocondria, juntando ambas estructuras a través de filamentos intermediarios (12). Estos autores han mostrado que tanto las mitocondrias como las gotas lipídicas están directamente unidas a filamentos intermediarios en las células de Leydig.

PROTEÍNAS RELACIONADAS CON EL TRANSPORTE DE COLESTEROL

Desde que se describió que la estimulación por ACTH depende de la síntesis *de novo* de proteínas, pero no de RNAm, se sugirió que la poza de colesterol de la membrana interna mitocondrial se metaboliza rápidamente, mientras que la regulación hormonal de la esteroidogénesis requiere de la movilización de colesterol de otros sitios celulares para ingresarlo a la poza que se localiza en la membrana interna.

La cinética de inhibición por CHX es interesante porque sugiere la presencia de una proteína extremadamente eficiente y con una vida media corta. Esta suposición se corroboró en varios laboratorios, aunque también se propuso que la proteína está como precursor y que se activa por la acción de la ACTH. El grupo de Orme-Johnson (en 3) describió una proteína de 28 kDa en las células de las glándulas suprarrenales de rata después de tratarlas con diBu-AMPc o ACTH. La proteína se detectó a los 3 min posteriores a la estimulación y de manera sincrónica con el incremento en la síntesis de corticosterona.

Pedersen y Brownie (en 3) purificaron la proteína SAP (steroidogenic acute protein) de 2.2 kDa, obtenida la fracción citosólica de suprarrenales de rata estimuladas con ACTH. Esta proteína es sensible a la pronasa pero no al calor; la presencia de CHX inhibe su aparición y favorece la unión entre el colesterol y el citocromo P450scc. La síntesis mitocondrial de P5 en presencia de 1 μM de SAP se estimuló 5 veces a los 5 min de incubación. Sin embargo, estudios posteriores sugirieron que esta proteína podría ser producto de la hidrólisis controlada de una de las proteínas pequeñas de choque térmico relacionada con la regulación de la proteína 78 (GRP78) del sistema de transporte de glucosa, ya que la secuencia de aminoácidos coincide con los de esta proteína. Los mismos autores observaron un incremento en la concentración de la SAP de 42 veces en la zona exterior de la corteza suprarrenal de cuyos, pero este incremento se acompañó de sólo dos veces la producción de P5, sugiriendo que la SAP no está directamente asociada al transporte de colesterol a nivel mitocondrial, aunque se sugieren otras alternativas. Pedersen (en 3) propuso que la SAP facilita la interacción del colesterol exógeno con el citocromo P450scc. Xu y cols. (en 3) evaluaron la función de la SAP y observaron que la proteína no estimuló la transformación del colesterol en P5 en mitocondrias de suprarrenales y que su efecto está asociado a la acción del GTP. Sin embargo, sugieren que los resultados pueden ser interpretados en función de la metodología utilizada.

La proteína acarreadora de esteroles (SCP_2) es otra de las proteínas involucradas en el transporte de colesterol mitocondrial. La SCP_2 participa en la conversión enzimática de los intermediarios entre lanosterol y colesterol en los microsomas del hígado de la rata y también participa en pasos clave de la utilización y transferencia de colesterol entre los organelos de las células. Esta proteína tiene un peso molecular de 13.5 kDa (en 3) y se ha propuesto que participa en el transporte de colesterol en las glándulas suprarrenales, ya que la adición de SCP_2 de homogenados de hígado de rata o de la fracción citosólica, incrementó la síntesis de P5 en mitocondrias de suprarrenales, probablemente al mejorar el acceso del colesterol hacia el citocromo P450scc. También se sugiere que el mecanismo de acción de la SCP_2 puede ser a través de la formación de un complejo binario entre la SCP_2 y la membrana, o bien a través de uno terciario que involucre a la SCP_2 y dos membranas. Sin embargo, aún quedan muchas interrogantes sobre el papel definitivo que puede tener esta proteína sobre la esteroidogénesis.

Otra proteína que aumenta la síntesis de P5 es una de 8.2 kDa aislada de las células de suprarrenal de bovino (en 3), la cual: 1) estimula la síntesis de P5 en mitocondrias de suprarrenales dependiendo de su concentración y si el colesterol está presente en el medio de incubación; 2) incrementa la concentración de colesterol en ambas membranas mitocondriales cuando se adiciona al medio de incubación colesterol, cuando se compara a su control en ausencia de colesterol; 3) acelera el transporte de colesterol de la membrana externa a

la interna; 4) estos cambios se asocian con un incremento en la interacción entre el colesterol y el citocromo P450scc; 5) tiene una vida media corta; 6) su punto isoeléctrico (6.5) es débilmente ácido; 7) su concentración es baja en células no estimuladas; 8) induce la síntesis de P5 tanto en mitocondrias como en mitoplastos. Estos datos sugieren que la proteína acelera el transporte de colesterol y como consecuencia estimula la actividad del citocromo P450scc. También se postula que esta proteína no tiene que ser la única responsable del transporte del esterol en las mitocondrias, y que su actividad puede estar ligada a otras proteínas descritas. Posteriormente, esta proteína se identificó como una des-(Gli-Ili)-endozepina, la cual se sintetiza de manera acoplada a la administración de ACTH, sugiriendo que su acción está ligada a los receptores periféricos a benzodiacepinas. Se demostró que la adición de esta des-endozepina a las mitocondrias incrementa la unión del colesterol al citocromo P450scc, aún en ausencia de colesterol exógeno, sugiriendo que la des-endozepina no sólo afecta el transporte de colesterol entre las membranas mitocondriales, sino que también favorece su movilización de la membrana interna al citocromo P450scc.

Se propuso que la asociación del colesterol con el citocromo P450scc debería ser facilitado por un péptido básico de bajo peso molecular (menor a 10 kDa). Dicha predicción se hizo en base a los estudios de P450scc de suprarrenales de bovino reconstituido en liposomas, liposomas con colesterol y péptidos artificiales de poli-lisina y poli-arginina. En este sentido, datos previos indican que la polilisina aceleraba la actividad mitocondrial de P540scc, presumiblemente porque las cargas positivas, al unirse a las cargas negativas de los fosfolípidos, modificaban la membrana alterando las proteínas que se encuentran en ella. Hasta el momento, todas las proteínas asociadas al transporte de colesterol cumplen con estas predicciones.

EL RECEPTOR DE BENZODIACEPINAS

Se observó la presencia de sitios de unión en las mitocondrias con alta afinidad a benzodiacepinas radiactivas en riñón. Desde entonces, se han reportado numerosos artículos en donde esta clase de sitios a benzodiacepinas están presentes en todos los tejidos, incluyendo al sistema nervioso central. Dada su abundancia en los tejidos periféricos y para distinguirlos de los receptores centrales a benzodiacepinas o al $GABA_A$, a éstos se les llamó "receptores periféricos a benzodiacepinas" (RPB).

Los RPB están formados por tres subunidades: una proteína fijadora de isoquinoleína, un canal aniónico dependiente de voltaje y de un acarreador de nucleótidos de adenina, cuyos pesos moleculares son 18, 31 y 30 kDa, respectivamente. Se observó un incremento en la secreción de corticosterona y de testosterona por diacepam, una benzodiacepina, por lo que propuso que su efecto era mediado por los RPB. El tratamiento de animales con agentes estimuladores de la esteroidogénesis van acompañados de un incremento en el número de RPB; de igual manera, existe un aumento en el número de RPB durante el desarrollo del ovario de la rata, lo que ha permitido sugerir su relación con el proceso esteroidogénico. Se ha propuesto que los RPB favorecen la translocación del colesterol de la membrana externa a la interna mitocondrial, siendo este el paso limitante de la esteroidogénesis. Sin embargo, existen datos contradictorios que no han permitido confirmar la participación de los RPB en este proceso (13).

LA PROTEÍNA ACTIVADORA DE LA ESTEROIDOGÉNESIS AGUDA (StAR)

Su descubrimiento

Surgió una nueva proteína (30 kDa) descrita por el grupo de Stocco (en 3), la cual identificaron tanto en la fracción mitocondrial de células de Leydig MA-10 de ratón estimuladas, como en células de Leydig R_2C de rata, las cuales sintetizan esteroides de manera constitutiva. Demostraron que esta familia de proteínas aparece en relación directa a la dosis administrada de gonadotropina coriónica humana (hCG) o de análogos del AMPc. Esta proteína tiene como precursores a proteínas de 37 y 32 kDa, las cuales se asocian a las mitocondrias, sugiriendo que la proteína activa de 30 kDa se transfiere a la mitocondria por un proceso que requiere remover un péptido señal y un potencial eléctrico transmembranal. Esta proteína está secuenciada y su gen clonado en el ratón, la rata y el humano.

El papel central de la StAR en la esteroidogénesis se obtuvo de la identificación de una patología clínica, la hiperplasia adrenal congénita lipoide

(HACL), que pertenece a un grupo de enfermedades en la síntesis de hormonas esteroideas. La HACL es la forma más severa, la cual se caracteriza por la ausencia de todas las hormonas esteroideas tanto circulantes como urinarias, además de niveles basales elevados en sangre de la ACTH y de la actividad de renina. No hay respuesta al tratamiento con dosis altas de ACTH o hCG y las suprarrenales acumulan colesterol y sus ésteres (14).

Los estudios con técnicas de biología molecular de tres pacientes con HACL no mostraron supresión, duplicación o rearreglos del gen del P450scc, ni alteraciones en la síntesis del RNAm de la adrenedoxina reductasa o adrenedoxina, sugiriendo que la lesión está fuera del sistema de expresión y funcionamiento de la cadena del P450scc. Propusieron que las proteínas asociadas al transporte colesterol, como la SCP_2, endozepinas, o SAP, podrían ser la causa de esta enfermedad. Sin embargo, ninguna de estas proteínas mostró modificaciones cuando se analizaron por Northern-Blot, y los niveles de los RNAm fueron semejantes a los de sujetos normales. También observaron que el DNA de los receptores a benzodiacepinas era normal en estos pacientes.

Posteriormente, determinaron si la proteína StAR podría estar asociada a esta enfermedad (15), evaluando su presencia tanto en células de sujetos normales como en las células testiculares de los pacientes con HACL previamente estudiados . La secuencia del DNA de la StAR por PCR de los pacientes era semejante a los controles, con excepción de una transición C-T en el codón 193 de un paciente, y una alteración semejante en el codón 258 de los otros dos pacientes. Las mutaciones generaron codones de término prematuros, produciendo proteínas que no tenían 93 y 28 aminoácidos en el extremo carboxilo terminal, respectivamente. Los autores investigaron las consecuencias funcionales de estas mutaciones, para lo cual coexpresaron la StAR normal con la cadena del P450scc en células renales COS-1. Observaron un incremento en la esteroidogénesis de 8 veces empleando colesterol como sustrato. En el mismo sistema, las dos mutantes fueron inactivas, aunque en presencia de 20α-hidroxicolesterol, el cual difunde libremente las membranas, no hubo diferencias en la síntesis de P5 entre el control y los pacientes (Tabla 1). Los efectos observados de la StAR sobre la producción de P5 con colesterol y 20α-hidroxicolesterol como sustrato, sugieren que la StAR modula el transporte de colesterol en la mitocondria.

La HACL es el único defecto de esta familia de enfermedades que no está asociado con una alteración de alguna de las enzimas esteroidogénicas. Los resultados permitirán hacer diagnósticos prenatales de esta enfermedad mortal. Las mutaciones de la StAR observadas en la HACL asemejan a muta-

TABLA I

EFECTO DE MUTACIONES SIN SENTIDO SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA StAR

VECTOR	PREGNENOLONA (ng POR CAJA)			
	scc-Adx		F2	
	COLESTEROL	20α	COLESTEROL	20α
pSPORT	20 ± 1	158 ± 21	17 ± 3	60 ± 7
pStAR	175 ± 19	138 ± 15	131 ± 23	60 ± 11
Paciente 1	19 ± 2	99 ± 23	18 ± 5	56 ± 7
Paciente 2 y 3	25 ± 4	168 ± 35	22 ± 4	75 ± 7

Las células no esteroidogénicas COS-1 se transfectaron con el vector pSPORT, el cual contiene a la cadena del citocromo P450scc de bovino (ssc-Adx) o de humano (F2). A estos vectores se les incluyó el DNAc de la proteína StAR (pStAR), o los DNAc de la StAR de los pacientes (Paciente 1 y paciente 2 y 3). El 20α-hidroxicolesterol (20α) se adicionó a una concentración de 5μg/ml. Las células se incubaron 48 horas, al término de las cuales se colectó el medio para determinar la concentración de P5 por inmunoensayo (tomado de la referencia 15).

ciones tipo "knockout", lo que demuestra que la StAR es indispensable para la esteroidogénesis gonadal o suprarrenal. Así, la StAR es la primer proteína que se identifica como esencial en el transporte de colesterol mitocondrial y su acceso al citocromo P450scc.

¿Y LOS EMBARAZOS DE PACIENTES CON HACL?

Durante el embarazo, la producción de altas concentraciones de progesterona son vitales para permitir que éste llegue a término. Sin embargo, los embarazos con productos con HACL sugieren que la esteroidogénesis placentaria no requiere de la StAR, a pesar de que la placenta surge del mismo cigoto que el producto. Se ha demostrado que la placenta carece de la expresión de la StAR, lo que permite proponer que la esteroidogénesis en otros tejidos emplea mecanismos diferentes a las suprarrenales y gónadas para la obtención del colesterol. Datos de nuestro laboratorio demuestran que el tratamiento de las mitocondrias de la placenta humana con tripsina no son capaces de sintetizar P5 en presencia de colesterol, pero sí en presencia de 22-hidroxicolesterol, el cual atraviesa libremente la membrana. Esto permite sugerir que el transporte de colesterol en la placenta humana está relacionado con un sistema proteico.

REFERENCIAS

1. Yeagle PL (1985) Cholesterol and the cell membrane, Biochim Biophys Acta *822*:267-287.

2. DePierre JW y Ernster L (1977) Enzyme topology of intracellular membranes, Ann Rev Biochem *46*:201-262.

3. Martínez F y Strauss JF III (1997) Regulation of mitochondrial cholesterol metabolism. En: Subcellular Biochemistry Volumen 28, Cholesterol: Its functions and metabolism in biology and medicine. Editor: R. Bittman. Plenum Press, pp. 205-234.

4. Poste G y Pasternak CA (1978) Virus-induced cell fusion En: Membrane Fusion, Volumen I. Editores Poste G y Nicolson GL. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, pp305-367.

5. Xu T, Bowman EP, Glass DB y Lambeth JD (1991) Stimulation of adrenal mitochondrial cholesterol side-chain cleavage by GTP, steroidogenesis activator peptide (SAP), and sterol carrier protein$_2$. GTP and SAP act synergistically, J Biol Chem *266*:6801-6807.

6. Thomson M, Korn M y Hall PF (1995) GTP-binding proteins in adrenocortical mitochondria, Biochim Biophys Acta *1248*:159-169.

7. Ardail D, Privat J-P, Egret-Charlier M, Levrat C, Lerme F y Louisot P (1990) Mitochondrial contact sites. Lipid composition and dynamics, J Biol Chem *265*:18797-18802.

8. Iida S, Papadopoulos V y Hall PF (1989) The influence of exogenous cholesterol on steroid synthesis in cultured adrenal cells, Endocrinology *124*:2619-2624.

9. Freeman DA (1989) Plasma membrane cholesterol: removal and insertion into the membrane and utilization as substrate for steroidogenesis, Endocrinology *124*:2527-2534.

10. Jefcoate CR, McNamara BC, Artemenko I y Yamazaki T (1992) Regulation of cholesterol movement to mitochondrial cytochrome P450scc in steroid hormone synthesis, J Steroid Biochem Molec Biol *43*:751-767.

11. Stevens VL, Tribble DL y Lambeth JD (1985) Regulation of mitochondrial compartment volumes in rat adrenal cortex by ether stress, Arch Biochem Biophys *242*:324-327.

12. Hall PF y Almahbobi G (1992) The role of the cytoskeleton in the regulation of steroidogenesis, J Steroid Biochem Molec Biol *43*:769-777.

13. Gavish M (1995) Hormonal regulation of peripheral-type benzodiazepine receptors, J. Steroid Biochem Molec Biol *53*:1-6.

14. Lin D, Gitelman SE, Saenger P y Miller WL (1991) Normal genes for the cholesterol side chain cleavage enzyme, P450scc, in congenital lipoid adrenal hyperplasia, J Clin Invest *88*:1955-1962.

15. Lin D, Sugawara T, Strauss JFIII, Clark BJ, Stocco DM, Seanger P, Rogol A, y Miller WL (1995) Role of steroidogenic acute regulatory protein in adrenal and gonadal steroidogenesis, Science *267*:1828-1831.

LOS CICLOS FÚTILES Y LA SOBREPRODUCCIÓN DE METABOLITOS BAJO LA PERSPECTIVA DEL CONTROL METABÓLICO

Alejandro Huerta-Saquero, Jorge Calderón, Gisela Du Pont y Socorro Durán. Departamento de Biotecnología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. AP 70228, México, DF, CP 04510.

RESUMEN

Uno de los principales objetivos de la biotecnología es la sobreproducción de metabolitos. La manipulación del metabolismo central para incrementar los flujos metabólicos es posible mediante el análisis del control metabólico, que nos permite identificar a los mecanismos de regulación de las vías metabólicas a fin de realizar modificaciones específicas y razonadas. Los ciclos de sustrato o fútiles en el metabolismo pueden ser mecanismos muy eficientes para permitir que los microorganismos respondan a cambios rápidos de las condiciones nutricionales y del medio para lograr la supervivencia. Sin embargo, su utilidad se torna aparentemente nula en condiciones controladas y de "exceso energético", donde pueden significar un gasto energético importante, el cual puede ser redirigido hacia la sobreproducción de metabolitos de interés, mediante al análisis de control de las vías metabólicas involucradas y su modificación.

PALABRAS CLAVE: Ciclos fútiles, control metabólico, sobreproducción, ingeniería metabólica, regulación, enzimas.

ABSTRACT

One of the main goals in biotechnology is overproduction of useful metabolites. Metabolic Control Analysis could be used to redesign metabolic pathways in a directed fashion by identifying their regulation mechanisms. Futile or substrate cycles in metabolism seem to be very efficient metabolic responses to drastic changes in environmental and nutritional conditions for the survival of microorganisms. However, their utility could be void in controlled conditions with "energetic excess", where substrate cycles represent energy dissipating reactions that can be suited to improve metabolic fluxes for metabolite overproduction by modifying metabolic pathways by Control Analysis.

KEY WORDS: Futile cycles, metabolic control, overproduction, metabolic engineering, regulation, enzymes.

INTRODUCCIÓN

Los libros de texto de bioquímica generalmente apoyan la idea de que la célula es capaz de regular sus reacciones metabólicas y la biosíntesis de sus enzimas para lograr una eficiencia máxima y economía, en tanto que los microbiólogos asumen que el rendimiento de crecimiento celular es proporcional a la cantidad de ATP sintetizado. Estos puntos de vista se contradicen por la observación de que las células en fase estacionaria de crecimiento pueden utilizar fuentes de energía con una ausencia completa de crecimiento y por el hecho de que la relación ATP-biomasa está muy por debajo de los valores teóricos esperados. Algunas de las variaciones en la eficiencia de crecimiento pueden explicarse mediante reacciones que disipan energía.

REACCIONES DE LIBERACIÓN DE ENERGÍA

En el análisis de la relación entre procesos anabólicos y catabólicos dentro de una célula, es posible distinguir mecanismos que permiten que la velocidad del catabolismo varíe de manera independiente de la velocidad del anabolismo, donde se involucran reacciones de liberación de energía. Dentro de tales reacciones podemos mencionar la generación de calor, la sobreproducción y excreción de metabolitos, y los ciclos de sustrato o fútiles (1). Este tipo de mecanismos debe tener un importante significado fisiológico y bioenergético: ¿Cuál es la razón por la que la célula "desperdicia" energía que puede canalizar para el crecimiento, por ejemplo? Tradicionalmente se considera que el éxito evolutivo de los microorganismos descansa en la optimización de recursos y canalización de la energía a procesos tales como la reproducción y la supervivencia (energía endógena, energía de man-

tenimiento, energía de recambio); y que tales procesos están perfectamente controlados, por lo que la energía no se disipa en procesos secundarios. Tal afirmación nos parece correcta, pero para que esté sólidamente fundamentada es conveniente analizar a los microorganismos dentro de su entorno como una unidad interdependiente, con intercambio de materia y energía. Dentro de este contexto, podemos identificar a las diferentes reacciones de disipación de energía como reacciones necesarias para la adecuación y supervivencia de los microorganismos en su medio, esto es, los microorganismos han sido seleccionados al contender con las dos principales fuerzas evolutivas antes mencionadas, la supervivencia y la reproducción, a cualquier precio, aún a expensas de energía.

Uno de los principales objetivos en la biotecnología es el de incrementar los flujos metabólicos de vías determinadas a fin de obtener metabolitos de interés biomédico, económico o biotecnológico. La sobreproducción de metabolitos mediante ingeniería metabólica ha tomado un auge sin precedentes: la producción a gran escala de aminoácidos, antibióticos, polímeros y un sinnúmero de compuestos ha sido posible gracias a las técnicas del ADN recombinante (2, 3).

El conocimiento de las propiedades de una vía metabólica, mediante el análisis cuantitativo de control metabólico, puede conducir a la manipulación razonada de las enzimas en forma individual, modificando sus propiedades cinéticas o sus niveles de expresión. En ausencia de análisis como éste, la probabilidad de éxito es baja y la mejoría en los resultados es muy modesta (4).

El análisis de control metabólico en los procesos de sobreproducción de metabolitos y en el control de reacciones de liberación de energía, como la existencia de ciclos de sustrato o fútiles, puede proporcionarnos el significado metabólico y bioenergético de tales procesos, por lo que es de nuestro interés enfocar esta investigación al cumplimiento de dicho propósito.

Esta revisión se iniciará explorando en primera instancia el análisis de control metabólico, sus principales bases y aplicaciones. Enseguida se evaluarán los ciclos de sustrato y la sobreproducción de metabolitos bajo los postulados de la Teoría de Control Metabólico, con el fin de dar un significado coherente a la existencia de dichos procesos en la naturaleza.

CONTROL METABÓLICO

Uno de los principales campos de investigación actual entre los bioquímicos, consiste en explicar a nivel molecular la homeostasis metabólica que se observa a nivel fisiológico: cómo las velocidades de síntesis y degradación de metabolitos se mantienen en balance sobre un amplio intervalo de condiciones externas sin efectos catastróficos. El descubrimiento de la inhibición por producto final, de la cooperatividad, de la modificación covalente de las enzimas y de los mecanismos de control de la síntesis y degradación de las enzimas, han aportado datos fundamentales sobre los aspectos moleculares involucrados en el control de los flujos metabólicos.

El análisis de control metabólico establece las bases teóricas y experimentales que permiten dilucidar los mecanismos involucrados en el control de los flujos metabólicos.

El análisis de control metabólico contempla a los sistemas metabólicos como una unidad, con todas las reacciones metabólicas conectadas vía metabolitos comunes conformando un conjunto interdependiente. Los sistemas metabólicos pueden ser estudiados en estados estacionarios estables, con lo que se asume que es una condición metabólica en que cada metabolito es sintetizado y degradado a la misma velocidad, por lo que las concentraciones de los mismos se mantienen constantes respecto al tiempo (estado estacionario dinámico); para lo cual, debe haber por lo menos un metabolito (X_0) como reserva de materia aportada (poza) y al menos otro (X_1) que salga de la vía metabólica (fuga):

$$X_0 \rightarrow [\ X_0 \rightarrow S_1 \rightarrow S_2 \rightarrow S_n \rightarrow X_1\ ] \rightarrow X_1$$

Los metabolitos pueden estar distribuidos homogéneamente entre las enzimas que actúan sobre ellos y la actividad enzimática de éstas dependerá principalmente de su concentración, de su interacción con otros metabolitos diferentes a su sustrato y a las interacciones con otras enzimas. En el análisis de control metabólico se asume a las enzimas como parámetros y no como variables, esto

es, no deben ser consideradas como metabolitos y su concentración es constante al menos durante la duración del estado estacionario estudiado. Además, la concentración de los metabolitos se cuantifica en su forma libre (4).

El análisis de control metabólico establece la relación entre las propiedades de los sistemas metabólicos con las propiedades particulares de sus componentes, específicamente, de las enzimas. La teoría de control metabólico propone que el control de flujo de una vía metabólica está compartido por las enzimas participantes, en diferentes grados de control; dichas enzimas controlan el flujo de la vía no solo dependiendo de sus características cinéticas, sino también de la influencia de las demás enzimas de la vía. Las enzimas involucradas pueden "distribuirse o compartir" el control metabólico en diferentes condiciones o estados estacionarios.

Las propiedades del sistema que sirven de base para la teoría de control, son los coeficientes de control (C_0), los cuales describen cómo una propiedad variable del sistema, típicamente un flujo metabólico o la concentración de un metabolito, responde a la variación de un parámetro, típicamente, a la concentración o actividad de una enzima. Los coeficientes de control de flujo de las enzimas permiten identificar sitios potenciales de control (enzimas con C_0 altos), las cuales pueden ser las enzimas regulatorias (5), que por métodos empíricos fueron originalmente identificadas como las "paso-limitantes" o enzimas claves de la vía metabólica. Los coeficientes de control de flujo se calculan así:

$$C^J_{Ei} = ([Ei] / J) (\delta J / d[Ei])_{ss}$$
$$C^J_{Ei} = (\delta \ln |J| / \delta \ln [Ei])_{ss}$$

donde C^J_{Ei} es el coeficiente de control de flujo (J) de la enzima Ei, en el estado estacionario (ss) y Ei se refiere a la concentración o actividad de la enzima i.

Los coeficientes de control de flujo son globales; las enzimas compiten por el control del flujo y la suma de los coeficientes de control de flujo de las enzimas de la vía metabólica debe ser igual a 1 (Teorema de la sumación):

$$C^J_{E1} + C^J_{E2} + \ldots C^J_{En} = 1; \qquad \sum C^J_i = 1.$$

Otro parámetro importante en la teoría de control, es la elasticidad, que a diferencia del coeficiente de control de flujo, no es una propiedad del sistema metabólico, sino de las enzimas individuales. La elasticidad enzimática la podemos definir como la respuesta local de la velocidad de reacción de una enzima a un cambio infinitesimal de uno de los participantes de dicha reacción (sustrato, moduladores alostéricos, otras enzimas, concentración enzimática, pH, temperatura), en el estado estacionario, así:

$$\varepsilon^i_{Xk} = \lim_{\delta[Xk] \to 0} (\delta Vi/Vi) / (\delta[Xk]/[Xk])$$

donde ε^i_{Xk} = coeficiente de elasticidad; Xk = metabolito; $\delta Vi/Vi$ = cambio en Vi de la enzima Ei por el cambio en la concentración del metabolito Xk: $(\delta[Xk]/[Xk])$.

$\varepsilon^i_{Xk} = (\delta \ln Vi / \delta \ln [Xk])[S],[P],[Xj],Km, pH, temp....;$
$\varepsilon^i_X = ([Xk] / Vi) (\delta Vi / \delta X)$

Las enzimas que presenten una gran respuesta a cambios en la concentración de su sustrato o producto(s), tendrán un coeficiente de elasticidad alto y un coeficiente de control de flujo bajo, ya que una reducción en la actividad de una enzima con una muy alta capacidad de respuesta, tendrá un efecto pequeño en el estado estacionario del flujo metabólico. Por otro lado, una enzima que no responda rápidamente a un cambio en la concentración de su sustrato, tendrá una elasticidad baja, y un coeficiente de control alto (puesto que empezará a ser limitante para el flujo de la vía metabólica). Estos dos parámetros se relacionan en la siguiente ecuación (teorema de la conectividad):

$$C^J_{E1} * \varepsilon^1_X + C^J_{E2} * \varepsilon^2_X + \ldots C^J_{En} * \varepsilon^n_X = 0; \; \sum C^J_i \, \varepsilon^i_X = 0.$$

Los coeficientes de control de flujo de dos enzimas relacionadas por un metabolito común, están inversamente relacionadas con sus coeficientes de elasticidad para dicho metabolito según la siguiente relación:

$$A \xrightarrow{E_1} X \xrightarrow{E_2} B$$

$$C^J_{E1} / C^J_{E2} = -\varepsilon^2_X / \varepsilon^1_X$$

El análisis experimental del control de flujo se centra en la modificación específica de alguna actividad enzimática mediante diferentes estrategias:

a) Mecanismos genéticos: variación de la dosis génica de las enzimas (6); control de la expresión enzimática a través de vectores inducibles (7).
b) Titulación con enzimas purificadas (8).
c) Titulación de las enzimas con inhibidores específicos.
d) Modulación enzimática a través de cambios hormonales y/o ambientales.

En el análisis del control metabólico, se pueden observar jerarquías de control, cualquiera de ellas manipulable gracias al desarrollo de técnicas de biología molecular. Dentro de tales jerarquías podemos distinguir: la regulación de la expresión genética, las regulaciones transcripcionales, traduccionales y postraduccionales (6).

CICLOS FÚTILES

Una posible vía de disipación de energía en el metabolismo, es la existencia de ciclos de sustrato o fútiles, los cuales ocurren donde una reacción o grupo de racciones que convierten el metabolito S_1 en S_2, ocurre en sentido inverso a otra reacción o grupo de reacciones que reconvierte a S_2 en S_1,, donde una de las reacciones requiere la hidrólisis de ATP. Si en ciertas circunstancias ambas reacciones se encuentran operando simultáneamente, entonces puede haber un flujo cíclico en el cual una apreciable proporción, o quizás todo S_1 que sea convertido a S_2 regrese a S_1. Por lo tanto, el flujo cíclico no presentaría otro cambio que la disipación de energía (la hidrólisis de ATP).

El desperdicio de energía por la operación simultánea de vías anabólicas y catabólicas fue sugerida inicialmente en 1963 por Steinberg, quien encontró evidencias de un ciclo fútil entre la deacilación y reesterificación en el metabolismo de triglicéridos en tejido adiposo. En 1966 Newsholme y Underwood propusieron la existencia de un probable ciclo fútil entre la Fructosa-6-P y Fructosa-1,6-DP, con implicaciones regulatorias. En 1978 Stein y Blum discutieron sobre la utilidad de los ciclos fútiles, los cuales existen en el metabolismo probablemente como puntos regulatorios del flujo metabólico, bajo controles muy estrechos (tales como el control alostérico recíproco de las enzimas involucradas; la modificación covalente de las mismas; diferentes constantes catalíticas de la enzima del flujo hacia adelante y de la enzima del flujo reverso), que eviten la pérdida energética; o bien, que esta aparente pérdida lleve consigo un fin útil no aparente.

En 1985 Calderón y Mora reportaron la existencia de un ciclo fútil de la glutamina en *Neurospora crassa*, donde este aminoácido es continuamente degradado y resintetizado, a expensas de ATP. El ciclaje de la glutamina también fué reportado en *Rhizobium etli* (9). Se han propuesto muchas funciones para explicar la existencia del ciclaje de la glutamina: irreversibilidad de la transaminación de la glutamina; un mecanismo para regular rápidamente la concentración intracelular de glutamina y glutamato; un mecanismo de control de la velocidad de síntesis y degradación de los compuestos nitrogenados; un mecanismo general para tomar o liberar los esqueletos de carbono de la glutamina; mantenimiento del balance entre los compuestos nitrogenados; o como un mecanismo de disipación de energía y producción de calor (9). También se ha propuesto la existencia del ciclaje de la glutamina en *Saccharomyces cerevisiae*.

En *Escherichia coli* se ha reportado la existencia de un ciclo fútil de amonio a través de la membrana celular, cuando el medio de crecimiento tiene concentraciones limitantes de potasio (10).

En *Streptococcus bovis* se ha encontrado que la deprivación de aminoácidos provoca que las velocidades anabólicas y catabólicas estén fuera de balance, con un desperdicio de energía producto de un posible ciclo fútil.

Fell (11) propone que los ciclos de sustrato deben ser rutas cíclicas, donde deben haber por lo menos dos flujos independientes y donde por lo menos un miembro del flujo cíclico pueda, en principio, ser bloqueado permitiendo que la vía metabólica pueda lograr un estado estacionario. Los ciclos fútiles disipan energía en el metabolismo, por lo que es muy interesante saber que tan grande es la pérdida energética y más aún, el significado de la existencia de dichos procesos dentro del contexto metabólico.

En 1983 Newsholme propuso que los ciclos de sustrato o fútiles pueden tener el papel de incrementar la sensibilidad del control metabólico, y sugieren que la velocidad de los ciclos varían de una condición a otra y que ciertos metabolitos (por ejemplo, hormonas), incrementan específicamente la velocidad del ciclaje. En otras palabras, es necesaria la variación en la velocidad del ciclaje, puesto que los requerimientos de sensibilidad enzimática varían de una condición metabólica a otra.

Por otro lado, la existencia de los ciclajes podría incrementar el control de flujo metabólico de reacciones en una amplia variedad de condiciones. No existen límites (teóricamente hablando) para la amplificación del control metabólico de los ciclajes y en todos los casos la relación entre la velocidad de la reacción reversa y el flujo neto a través de la vía a analizar (V_{rev}/F_{neto}) es la que determina la respuesta final del sistema.

Fell y Sauro (12) proponen un mecanismo para cuantificar el control metabólico en los ciclajes, en el cual los datos fundamentales para el análisis son los coeficientes de elasticidad de las enzimas participantes y una nueva cuantificación denominada cociente de reciclaje (α).

Si tenemos:

Flujo C: $A \xrightarrow{E_1} S \underset{E_4}{\overset{E_2}{\rightleftarrows}} P \xrightarrow{E_3} B$

Flujo L: $A \xrightarrow{E_1} S \xrightarrow{E_2} P \xrightarrow{E_3} B$

La influencia del ciclaje en los coeficientes de control de flujo de las enzimas del flujo C, pueden cuantificarse por la relación entre los coeficientes de control de flujo de E_2 obtenidos con y sin ciclaje (flujos C y L):

$$a)\ C^J_{2C}/C^J_{2L} = \frac{1}{1-(\alpha/(1+\alpha)) * (1-(\varepsilon p^4/\varepsilon p^3)-(\varepsilon s^4/\varepsilon s^1)/1-(\varepsilon p^2/\varepsilon p^3)-(\varepsilon s^2/\varepsilon s^1))}$$

$$b)\ C^J_{2C} / C^J_{2L} = \frac{1}{1-(\alpha / (1+\alpha)) * K}$$

Donde C^J_{2C} y C^J_{2L} son los coeficientes de control de flujo de E_2 para ambos flujos (C y L). (K reemplaza la relación de las elasticidades en b). El control de flujo de E_2 es amplificado cuando la relación de elasticidades K es mayor que 1.

La amplificación del control de flujo puede existir como resultado de dos factores: 1) el de la relación de coeficientes de elasticidad que dependen de las propiedades "locales" de las reacciones envueltas en el ciclaje (K en la ecuación b) y 2) el factor de reciclaje (α) relacionado a la velocidad de la reacción reversa o de reciclaje y al flujo neto de la reacción hacia adelante.

Entonces, cualitativamente podemos considerar dos tipos de ciclos de sustrato: aquellos que presentan una amplificación del control de flujo ilimitada (cuando $v_4 > v_2$ en el flujo C) y aquellos en que dicha amplificación es limitada a $(1 + \alpha)$ en la ecuación b.

Para analizar la amplificación es importante señalar que K resulta de la combinación de las elasticidades del sistema de reacciones para S y P, por lo que un mismo valor para K puede resultar de diferentes combinaciones de elasticidades de las reacciones involucradas, lo que puede tener diferentes significados metabólicos. Por lo tanto, un valor de amplificación idéntico puede ser obtenido en ciclajes con diferentes propiedades en sus elasticidades.

Se han diseñado algunas estrategias experimentales para la cuantificación de los ciclos de sustrato *in vivo*:

Mediante el marcaje isotópico de la glucosa y la fructosa-1,6-bifosfato durante el metabolismo glicolítico y gluconeogénico en *E. coli*, se ha logrado medir cuantitativamente el ciclaje, cuyas enzimas involucradas son la fosfofructocinasa y la fructosa-1,6-bifosfatasa.

En *S. cerevisiae*, se ha construído un sistema de expresión de las enzimas gluconeogénicas fructosa-1,6-bifosfatasa y fosfoenolpiruvato-carboxicinasa, bajo el control de un promotor inducible no reprimido por glucosa, con el cual se expresaron las enzimas mencionadas bajo condiciones glicolíticas,

creando un ciclo fútil que se tradujo en un decremento en el rendimiento de crecimiento de un 30% y un aumento en el tiempo de duplicación del 20%.

Chao y Liao, en 1994 reportaron la creación de un ciclo fútil entre fosfoenolpiruvato (PEP) y el oxaloacetato (OAA) en *E. coli*, mediante la sobreexpresión simultánea de la fosfoenolpiruvato-carboxicinasa y la fosfoenolpiruvato-carboxilasa a partir de un plásmido multicopia inducible. La sobreexpresión simultánea de estas enzimas estimularon el consumo de oxígeno y de glucosa, redujo el rendimiento de crecimiento y provocó la excreción al medio de piruvato y acetato.

Mediante la clonación de las enzimas PEP-carboxicinasa, piruvato carboxilasa, PEP-sintetasa y piruvato-cinasa, en vectores para su sobreexpresión por separado, se han creado ciclos fútiles entre el PEP y OAA, y entre el PEP y el piruvato. Dichos ciclos de síntesis y degradación continua, redujeron los rendimientos de crecimiento de las cepas transformadas, aumentaron su consumo de glucosa y de oxígeno y aumentaron su tiempo de duplicación. Entre sus conclusiones, estos investigadores proponen a los ciclos fútiles como una herramienta en la ingeniería metabólica para estimular el metabolismo hacia la producción de metabolitos de interés o para la digestión de compuestos tóxicos.

RIGIDEZ METABÓLICA EN LA SOBREPRODUCCIÓN DE AMINOÁCIDOS ¿EXISTEN PUNTOS DE CONTROL GENERALES?

Con el advenimiento de las tecnologías del ADN recombinante, con el avance en la clonación molecular y en el conocimiento de las vías metabólicas para la producción de la mayoría de los aminoácidos, se han desarrollado estudios tendientes a sobreproducirlos, puesto que presentan un formidable mercado biotecnológico.

En general, un metabolito es sobreproducido alterando la regulación de la vía directamente asociada con su síntesis, o bien realizando transferencias genéticas de un organismo a otro, cuya información engloba a los genes que codifican para el metabolito de interés, lo que permite un aumento en el flujo metabólico hacia la producción del mismo.

En contados trabajos se considera la manipulación del metabolismo central, como una herramienta para la sobreproducción de algún metabolito, como por ejemplo, para la sobreproducción de aminoácidos. En este sentido, los trabajos reportados referentes a su sobreproducción versan sobre la modificación de una enzima de la vía metabólica particular, con lo que se han logrado avances muy importantes en cuanto a sobreproducción, aunque nunca se han alcanzado los valores teóricamente esperados (4).

La modificación del metabolismo primario para redirigir flujos metabólicos hacia la obtención de un rendimiento máximo de productos es una línea de la ingeniería metabólica recientemente explorada.

Stephanopoulos y Vallino (13) han descrito la presencia de nodos o puntos de bifurcación entre vías metabólicas relacionadas, como puntos de regulación y redirección de flujos, las cuales en su conjunto forman una red metabólica, cuya rigidez depende de las condiciones metabólicas y los requerimientos del organismo. Para la manipulación de vías metabólicas determinadas, es necesario conocer los puntos de regulación involucrados, a fin de realizar modificaciones específicas y muy dirigidas: "razonadas".

Existen puntos de control o nodos más generales, los cuales involucran vías centrales del metabolismo, cuya modificación suele ser mucho más compleja que la realizada a nodos particulares de la vía a sobreexpresar, por lo que se torna necesario tener un panorama general del control metabólico para iniciar una modificación razonada hacia la producción de un metabolito de interés biotecnológico.

La biosíntesis de aminoácidos aromáticos en todos los organismos parte de una vía común hacia la síntesis de corismato, del cual parten las vías para la síntesis de triptofano, fenilalanina y tirosina (3, 14): la sobreproducción de triptofano ha alcanzado valores de hasta 43 gramos por litro. La estrategia empleada para ésto consistió en la amplificación de genes desregulados que codifican para las enzimas involucradas en la síntesis de éste aminoácido: 3-desoxi-D-arabino-heptulosonato-7-fosfato sintetasa (DS), antranilato sintetasa (ANS) y antranilato fosforibosil transferasa (PRT), las cuales perdieron

su inhibición por triptofano (15). También se ha conseguido aumentar la biosíntesis de lisina al seleccionar cepas con aspartatocinasa (ASK) y aspartato semialdehido deshidrogenasa (ASD) desreguladas por lisina, las cuales sobreexpresan la actividad de la ASK, con lo que los rendimientos llegan hasta 25 gramos por litro. En el caso de la fenilalanina, los rendimientos alcanzan hasta 50 gramos por litro, logrados mediante la modificación genética de las enzimas involucradas en la ruta metabólica: deregulación por fenilalanina y tirosina de la 3-desoxi-D-arabino-heptulosonato-7-fosfato sintetasa y la corismato mutasa-prefenato deshidratasa.

Dentro del desarrollo de las teorías de control metabólico, se han diseñado una serie de aproximaciones experimentales para determinar cuál enzima o enzimas controlan los flujos metabólicos, a fin de conocer de manera más global los mecanismos regulatorios existentes en los sistemas biológicos. Dichos mecanismos deben tener categorías de acuerdo a sus alcances o participación dentro del metabolismo, lo que nos permite suponer que el control metabólico para la síntesis de aminoácidos puede tener un punto de referencia global, el cual es necesario identificar.

Mediante el análisis de control metabólico podemos cuantificar el grado de control que cada enzima ejerce sobre el flujo, mediante diferentes aproximaciones experimentales, como lo es el determinar el contenido de metabolitos involucrados en una vía metabólica dada, lo que nos daría información acerca de la actividad enzimática más "lenta" o limitante; otra es la de determinar cual enzima o enzimas se encuentran más alejadas del equilibrio, mediante la comparación de sus constantes de acción de masas en el equilibrio y en un estado estacionario dado; otra es la de comparar porcentualmente la cantidad de metabolitos de una condición metabólica y otra diferente, a fin de observar cual metabolito aumenta o disminuye significativamente, observando así la o las enzimas que regulan los flujos en dichas condiciones (5).

Determinando los puntos principales de control y sus mecanismos de modulación, se pueden diseñar estrategias para modificarlos a nuestra conveniencia.

En *E. coli* y *C. glutamicum*, cuando se crecen en glucosa como fuente de carbono, los niveles de PEP y eritrosa-4-fosfato (E4P) son insuficientes para soportar un incremento en la sobreproducción de aromáticos, debido al bajo flujo de carbono a través de la vía de las pentosas y al uso del PEP en el sistema de la fosfotransferasa (PTS). Una enzima que pudiera estar limitando el flujo de carbono a través de la vía glicolítica pudiera ser la transcetolasa y la PEP sintetasa, o bien la transaldolasa, enzima productora de E4P. Bajo este contexto teórico, Lu y Liao (14) han obtenido una cepa de *E. coli* que sobreexpresa el gen *tal*, que codifica para la síntesis de transaldolasa, y que además sobreexpresa el gen *aroB* que sobreproduce DAHP (3-desoxi-D-arabinoheptulosonato-7-fosfato); la cepa resultante incrementó el flujo hacia la síntesis de DAHP a partir de glucosa, con lo que se comprobó que el suplemento de E4P es limitante en esa condición; sin embargo, la sobreexpresión de *tal* en una cepa que sobreexpresa transcetolasa (*tktA*), no incrementó la síntesis de aromáticos, posiblemente por la saturación de E4P, o bien por el insuficiente aporte de PEP (14).

Al tener precursores comunes las vías metabólicas para la síntesis de los aminoácidos triptofano, fenilalanina y tirosina, es posible explorar la existencia de nodos generales, que nos permitan aumentar la producción de los mismos.

Este grupo de aminoácidos se derivan de los intermediarios DAHP y E4P, de cuya disponibilidad depende la sobreproducción de los tres aminoácidos, por lo que el identificar el punto de control global se torna indispensable.

CICLOS FÚTILES Y SOBREPRODUCCIÓN DE METABOLITOS DE INTERÉS BIOTECNOLÓGICO

Los ciclos de sustrato en el metabolismo pueden ser mecanismos muy eficientes para permitir que la bacteria se adapte a cambios rápidos de las condiciones nutricionales para lograr la supervivencia. Sin embargo, su utilidad se torna aparentemente nula cuando los microorganismos se cultivan en condiciones controladas y sin cambios drásticos, con nutrimentos proporcionados en exceso y de manera continua. En estas condiciones de "exceso energético" es posible obtener organismos cuyos ciclos de

sustrato sean modificados a fin de que canalicen la energía que se gasta en los mismos hacia la producción de metabolitos de interés biotecnológico, tales como aminoácidos, antibióticos, polímeros, o incluso biomasa.

En la gran cantidad de microorganismos que se han modificado genéticamente para beneficio biotecnológico, no se ha explorado aún la existencia y operatividad de ciclos de sustrato, los cuales pueden tener una participación importante en la distribución de energía dentro del metabolismo, la cual pudiera ser canalizada para mejorar los rendimientos de producción de los metabolitos involucrados.

CONCLUSIONES

El análisis de control metabólico es una herramienta fundamental para el conocimiento de los procesos celulares; los postulados de la Teoría de Control Metabólico permiten inspeccionar las vías y las redes metabólicas con cierto grado de aproximación a la naturaleza real de los procesos y su fino control e interrelación. Los procesos metabólicos con un significado poco aparente o difícil de explicar, como las reacciones de disipación de energía, sobreproducción de metabolitos y ciclos de sustrato, pueden y deben ser analizados bajo la lupa del control metabólico, puesto que dichos procesos no son inútiles ni son errores metabólicos en los que ocurre un desperdicio energético, sino que son procesos necesarios para la supervivencia de los microorganismos.

La existencia de los ciclos de sustrato, mal llamados fútiles, obedecen a la necesidad de incrementar el control metabólico de las vías involucradas en dicho proceso, con el fin de lograr la homeostasia metabólica. La complejidad de las redes metabólicas en que operan los ciclajes, dificultan la interpretación de su papel, más aún si dicho papel se evalúa en condiciones ambientales controladas y con exceso de nutrimentos, como las existentes en reactores o experimentos de laboratorio (esto es, es posible que la interpretación de ciclos fútiles se haya desarrollado a partir de la observación de dichos procesos en microorganismos y en cultivos celulares crecidos bajo condiciones de laboratorio, en las cuales se ofrecen todos los recursos necesarios, en exceso y permanentes; condiciones alejadas a las que se encuentran en la naturaleza). La evaluación de cualquier proceso metabólico debe hacerse en diferentes condiciones metabólicas o diferentes estados estacionarios, sin olvidar en ningún momento las condiciones naturales tan cambiantes en que se desarrollan los microorganismos, mismas que pueden dar significado fisiológico a estos ciclos.

La sobreproducción de metabolitos de interés biotecnológico ha sido un objetivo ampliamente perseguido y estudiado. El análisis del control de las vías metabólicas involucradas en la sobreproducción es necesario para lograr una manipulación del metabolismo direccionada y eficiente. Los mecanismos de disipación de energía en microorganismos manipulados genéticamente para la sobreproducción de metabolitos, debe evaluarse bajo el contexto del control metabólico, a fin de dirigir estas "fugas energéticas" hacia la sobreproducción de los mismos.

AGRADECIMIENTOS

A los Doctores Rafael Moreno-Sánchez y Fernando Bastarrachea Avilés por su entusiasta participación en la revisión crítica de este manuscrito.

REFERENCIAS

1. Tempest D y Neijssel O (1992) Physiological and energetics aspects of bacterial metabolite overproduction, FEMS Microbiol Lett *100*: 169-176.

2. Cameron D y Tong I (1993) Cellular and metabolic engineering, Appl Biochem Biotech *38:* 105-140.

3. Jetten M y Sinskey A (1995) Recent advances in the physiology and genetics of aminoacid-producing bacteria, Crit Rev Biotech *15*(1): 73-103.

4. Fell D (1992) Metabolic Control Analysis: a survey of its theoretical and experimental development, Biochem J *286:* 313-330.

5. Kacser H (1995) Recent developments beyond metabolic control analysis, Biochem Soc Trans *23:* 387-391.

6. Jensen P, Snoep L, Molenaar D, van Heeswijk W, Kholodenko B, van der Gugten A y Westerhoff H (1995) Molecular biology for flux control, Biochem Soc Trans *23:* 367-370.

7. Chao Y, Patnaik R, Roof W, Young R y Liao J (1993) Control of gluconeogenic growth by *pps* and *pck* in *Escherichia coli*, J Bacteriol *175:* 6939-6944.

8. Torres N (1990) Control of glycolysis in rat liver by glucokinase and phosphofructokinase influence of glucose concentration, Mol Cell Biochem *93:* 21-26.

9. Durán S y Calderón J (1995) Role of the glutamine transaminase-ω-amidase pathway and glutaminase in glutamine degradation in *Rhizobium etli*, Microbiol *141:* 589-595.

10. Buurman E, Texeira M y Neijssel O (1991) Futile cycling of ammonium ions via the high affinity potassium uptake system (Kdp) of *Escherichia coli*, Arch Microbiol *155:* 391-395.

11. Fell D (1993) The analysis of flux in substrate cycles, Biochem Soc Trans *21:* 257S.

12. Fell D y Sauro M (1985) Metabolic control and its analysis, Eur J Biochem *148:* 555-561.

13. Stephanopoulos G y Vallino J (1991) Network rigidity and metabolic engineering in metabolite overproduction, Science *252:* 1675-1681.

14. Lu J y Liao C (1997) Metabolic engineering and control analysis for production of aromatics: role of transaldolase, Biotech and Bioeng *53:* 132-138.

15. Katsumata R e Ikeda M (1993) Hyperproduction of tryptophan in Corynebacterium glutamicum by pathway engineering, Biotechnol *11:* 921-925.

FISIOLOGÍA Y REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE GENES DURANTE LA FASE ESTACIONARIA DE CRECIMIENTO EN BACTERIAS GRAM NEGATIVAS

Marcela Zamudio Maya. Facultad de Ingeniería Química. Universidad Autónoma de Yucatán. Av Juárez No. 421, Cd Industrial, AP 1226-A, Mérida, Yuc, CP 97288, México.

RESUMEN

La fase estacionaria de crecimiento en los microorganismos se caracteriza por el cese en el aumento del número de células debido al agotamiento de nutrientes del medio de cultivo. El mantenimiento de la viabilidad celular durante largos períodos de tiempo en estas condiciones, involucra intrincados mecanismos adaptativos. Esta revisión describe la importancia de RpoS o factor (S como un regulador global en la expresión de genes durante esta fase, los factores que regulan la expresión de este factor y su interacción con algunos otros elementos también relacionados con la expresión de genes en células privadas de nutrientes.

PALABRAS CLAVE: Fase estacionaria, fisiología, expresión de genes , RpoS.

ABSTRACT

Bacterial adaptation to nutrient limitation during entry into and maintenance of stationary phase is characterized by an intricate series of metabolic changes that continue over a long time. All adaptive responses, from changing nutrients to various stresses, involve genetic switches that control the metabolic changes taking place. In this review, the RpoS or (S role as a stationary phase global regulator in gene expression is emphasized. Some factors affecting its own synthesis and the interaction with other components affecting gene expression during nutrient starvation are also described.

KEYWORDS: Stationary phase, physiology, gene expression, RpoS.

INTRODUCCIÓN

Las células bacterianas tienen la capacidad de responder rápidamente a los cambios ambientales durante el crecimiento, mediante la activación de la expresión de genes como respuesta a un estrés específico. Una de las respuestas iniciales a la limitación de un nutriente en particular -como el carbono, nitrógeno o fósforo- es la de inducir la expresión de un grupo de genes cuyas funciones estén diseñadas para ayudar a que las células puedan sobreponerse a ese estrés específico de privación. Una disminución en el nivel del nutriente en particular, conlleva a la activación de un regulador transcripcional que enciende la expresión de los genes del regulón participante. Cuando la inducción de estos regulones no es adecuada para asegurar una cantidad suficiente del nutriente limitante, el crecimiento cesa y las células entran en fase estacionaria. La fisiología de la células durante esta etapa variará enormemente dependiendo de la composición del medio en el que estén creciendo y de las condiciones en las que apareció la limitación (1). En una célula privada de nutrientes no es posible una respuesta rápida que requiera transcripción de genes y síntesis de novo de proteínas. De ahí que las células deben prepararse con anticipación para contender con la eventual posibilidad de cambios o restricciones del medio ambiente, tales como estrés por limitación de nutrientes, estrés oxidativo, o bien por calor o por presión osmótica. En este trabajo se pretende realizar una revisión de los aspectos que regulan la adaptación de las bacterias gram negativas a cambios estresantes del medio ambiente y en la que no se presentan las formas clásicas de resistencia como son las esporas.

FISIOLOGÍA DE LA FASE ESTACIONARIA

Durante la fase estacionaria de crecimiento, la bacteria *Escherichia coli* pierde la forma común de bacilo debido a que las células llegan a ser bastante

más pequeñas y casi esféricas, como resultado de las divisiones celulares sin aumento de la masa celular (2). El volumen relativo y la disposición de las regiones subcelulares también cambian dentro de la célula (v.g. el citoplasma se condensa y el volumen del periplasma aumenta). Se observan cambios en la envoltura celular que reflejan la necesidad de protección y aislamiento de los ambientes estresantes. Las células privadas cubren su superficie con moléculas hidrófobas adicionales que favorecen la adhesión y la agregación. La composición de los ácidos grasos se modifica, por ejemplo en células de *E. coli* en fase estacionaria, todos los ácidos grasos insaturados de la membrana se convierten en derivados del ciclopropilo, disminuyendo la fluidez de la bicapa. Además, la pared celular sufre cambios estructurales, que podrían estar relacionados con una mayor resistencia a la autolisis (1). El cromosoma sufre cambios topológicos que coinciden con una reducción en la expresión de genes observada en células privadas. En *E. coli* y *Vibrio* spp, después de varias horas en fase estacionaria, se condensa el nucleoide y se manifiestan cambios en la densidad superhelicoidal negativa de plásmidos (3 y 4). Se ha observado que las células de *E. coli, Salmonella typhimurium* y *Vibrio* spp privadas de nutrientes son más resistentes al choque térmico, estrés oxidativo y osmótico que las células en fase exponencial (1 y 5).

E. coli, S. typhimurium y *Vibrio* spp presentan expresión temporal de ciertas clases de genes durante la fase estacionaria de crecimiento. La expresión de algunos genes se induce en la fase muy temprana de esta etapa, mientras que otros no se inducen hasta después de muchas horas (1 y 6). Se ha descrito durante el inicio de la fase estacionaria, que las proteínas que se sintetizan están involucradas en mantener la viabilidad de la célula durante largos períodos de limitación. Se ha observado que cuando se inhibe la síntesis de proteínas con cloranfenicol durante las primeras horas de la fase estacionaria, la tasa con la cual los cultivos pierden viabilidad aumenta enormemente. Mientras que cuando se inhibe la síntesis de proteínas en células que han estado en fase estacionaria por varias horas, solo se produce una ligera disminución en la viabilidad (6). De ahí que la regulación de las proteínas que se sintetizan durante esta fase sea crítica para la sobrevivencia de la célula.

La adaptación de las bacterias a la limitación de nutrientes durante el inicio y el mantenimiento de la fase estacionaria, se caracteriza por una serie de cambios metabólicos intrincados que continúan por un largo período de tiempo. Todas las respuestas adaptativas, ya sea al cambio de nutrientes o a varias condiciones estresantes, involucran una serie de mecanismos de encendido y apagado que controlan estos cambios metabólicos. Un mecanismo regulatorio común, involucra la modificación de factores sigma, subunidades de la holoenzima de la ARN polimerasa que le confieren afinidad selectiva por un promotor específico. Entre este tipo de subunidades se ha descrito una proteína identificada como factor σ^{38} ó σ^{s}, producto del gen *rpoS*, originalmente identificado como *katF*. Algunos otros alelos de este gen, que se han identificado como resultado de diferentes fenotipos son: *nur*, *appR*, *csi*-2 y *abrD*. Todos éstos presentan fenotipos pleiotrópicos con una pérdida rápida de la viabilidad cuando son expuestos a diversas condiciones estresantes, tales como la exposición a la radiación UV, temperaturas elevadas, alta salinidad, condiciones oxidantes (presencia de peróxido de hidrógeno) y privaciones prolongadas de nutrientes (5). σ^{s} ha sido descrito como un factor clave en la respuesta a condiciones de stress durante la transición de la fase de crecimiento exponencial a la estacionaria.

Algunos genes cuya transcripción está regulada por la presencia del factor σ^{s} se presentan en la Tabla I.

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL FACTOR σ^{S}

La expresión de *rpoS* ha sido estudiada en cepas de *E. coli* con plásmidos que contienen fusiones *katF(rpoS)*::lacZ, donde la transcripción de la β-galactosidasa está bajo el control del promotor de katF, relacionándose de esta manera los niveles de actividad de β-galactosidasa presentados en diferentes condiciones de crecimiento de estas cepas con la expresión de rpoS. Se reportó que durante el período lag, previamente al inicio del crecimiento, la expresión de *rpoS* en *E. coli* se incrementa hasta diez veces, al transferir células de un medio rico a uno mínimo, posteriormente la expresión de *rpoS* se eleva ligeramente a lo largo de toda la fase exponencial y se presenta otro ligero aumento al

TABLA I

GENES U OPERONES REGULADOS POR RpoS.

GEN U OPERON	PRODUCTO O FUNCION	OTROS FACTORES QUE CONTROLAN SU SÍNTESIS ADEMÁS DE RpoS	REFERENCIAS
otsB, otsA y treA	Intervienen en la síntesis y degradación de trehalosa.	Osmolaridad del medio.	10
osmB	Lipoproteína de membrana externa sin función definida.	Osmolaridad del medio.	10
osmY (csi-5)	Proteína periplásmica de función desconocida.	Osmolaridad del medio.	13
bolA	Participa en la morfogénesis celular.	Osmolaridad del medio.	2
dps (pexB)	Proteína que se une y protege al ADN.	Osmolaridad del medio.	10
xthA	Exonucleasa III.	Osmolaridad del medio.	5
glgS	Interviene en la síntesis de glucógeno.	Inducción osmótica débil, complejo AMPc-CRP, exceso de glucosa y falta de nitrógeno.	5
aldB	Aldehido deshidrogenasa.	Inducción osmótica débil.	10
csiE	Función desconocida.	Inducción osmótica débil.	5
csgCDEF y csgBA	Requeridos en el *fimbriae* que interviene en la adhesión a tejidos eucarioticos.	Inducción osmótica débil.	5
ppk	Polifosfato cinasa.	Limitación de fósforo, estrés alcalino, carga energética.	10
katE	Catalasa HPII, protección en ambiente oxidante.	Ambiente oxidante.	11
cbdAB-appA y appY	Citocromo oxidasa tipo b y d, fosfatasa ácida y un activador transcripcional.	Limitación de fósforo, anaerobiosis y cambio osmótico.	5
hyaABCDEF	Hidrogenasa I.	Limitación de carbono y fósforo, cambio osmótico y AppY.	5

entrar a la fase estacionaria (7). De la misma manera, algunos estudios con cepas de *E. coli*, incapaces de sintetizar la adenilato ciclasa (Δ*cya*) o la proteína CAP (Δ*crp*), han demostrado que los niveles de expresión de *rpoS* aumentan en medios mínimos con glucosa y que la adición de AMPc puede revertir esta acción, al igual que durante la fase exponencial de crecimiento en un medio rico como el Luria-Bertani (LB), y también en fase estacionaria en medio LB (8). De modo que, el complejo AMPc-CRP podría estar controlando negativamente la transcripción de *rpoS*.

Mc Cann y colaboradores (9) reportaron que en *E. coli* la expresión transcripcional y traduccional de *rpoS* se induce una o dos horas previas al cese de crecimiento, debido a la limitación de glucosa en un medio mínimo. Sin embargo la traducción aumenta ocho veces en contraste con la transcripción, la cual solamente aumenta dos veces. De ahí que se sugiriera que el control primario para la aparición del factor σ^s pudiera ser el postranscripcional.

El factor σ^s es mejor conocido por su papel en la regulación de genes durante la entrada en la fase estacionaria. Sin embargo, también funciona como regulador celular global durante el estrés hiperosmótico (10) o ácido (11). El nivel celular de σ^s aumenta como respuesta a estas condiciones. La alta osmolaridad, la baja temperatura y las condiciones de fase exponencial tardía estimulan la traducción de *rpoS* (12). La degradación de la proteína σ^s es muy alta bajo condiciones de poco estrés. Empero, esta degradación se inhibe en condiciones de mucho estrés, provocando de esta manera, una mayor estabilidad de la proteína.

Muffler y colaboradores (12) demostraron que σ^s se induce por choque térmico y que esta inducción se debe exclusivamente a una disminución en el recambio de σ^s. Se reportó que la proteína de choque térmico DnaK, ejerce control positivo post-transcripcional sobre la expresión de *rpoS*. La expresión de la proteína DnaK está regulada principalmente por el factor σ^{32} (subunidad s de la ARN polimerasa específica de

la respuesta al choque térmico), pero su inducción se sobrepone también a otras condiciones de estrés, como por ejemplo el oxidativo.

Algunos otros factores involucrados en la regulación de genes que se expresan en la fase estacionaria.

El orden temporal de expresión de genes controlados por σ^s indica que otros componentes con función reguladora están relacionados con el control de los genes σ^s dependientes.

El complejo AMPc-CRP ha sido postulado como activador de muchos genes inducidos en la fase estacionaria. Cuando se estudió la expresión de los genes *cstA* (factor relacionado con la limitación de carbono) y *glgS* (factor involucrado en la síntesis de glucógeno) en mutantes *cya*$^-$, la adición externa de AMPc durante la fase exponencial no estimuló inmediatamente la expresión de algunos de estos genes, observándose un efecto positivo solamente después del inicio de la limitación. De ahí que se sugiriera la presencia de otro factor para la inducción y que estaría presente solamente en las células privadas (5). El factor σ^s puede ser ese factor específico de la fase estacionaria.

Por otro lado, algunos genes *pex* relacionados con la limitación de carbono y que inducen la resistencia general, así como otros genes dependientes de σ^s, están bajo control negativo de AMPc-CRP (13). Ejemplo de ésto es la represión causada por este complejo en la expresión cromosomal de *osmY* (proteína periplásmica inducida hiperosmóticamente al inicio de la fase estacionaria), durante todas las fases de crecimiento en medio mínimo. No obstante, en medio rico la represión ocurre solamente en la transición temprana a la fase estacionaria de crecimiento (14). De manera que otros factores son los responsables de mantener baja la expresión de *osmY* en células con rápido crecimiento en medio rico. La represión por AMPc-CRP se elimina durante la entrada a la fase estacionaria por un mecanismo desconocido. El complejo AMPc-CRP actúa independientemente de σ^s, ya que la represión provocada por el AMPc exógeno puede aún observarse en una mutante doble *cya rpoS*.

Recientemente, la proteína regulatoria que responde a los niveles de leucina, Lrp, también ha sido reconocida como un regulador global del metabolismo en *E. coli*. La presencia de esta proteína afecta la expresión de muchos genes, tanto positiva como negativamente. En algunos casos, la leucina aumenta el efecto de acción de Lrp, en otros lo elimina y en otros más, no presenta ningún efecto. Los niveles de transcripción a partir del promotor de lrp se evaluaron utilizando *lacZ* como gen reportero. Los niveles celulares de Lrp en *E. coli*, expresados como reflejo de la actividad de β-galactosidasa, varían poco en función de la fase de crecimiento en medios mínimos. Sin embargo, en medios ricos los niveles celulares de Lrp disminuyen de 3 a 4 veces durante la fase lag, permanecen constantes durante la fase logarítmica y recuperan los niveles iniciales durante la entrada a la fase estacionaria. Los niveles de Lrp en células en crecimiento logarítmico en medio mínimo son 3 ó 4 veces mayores que los niveles observados en un medio rico en la misma fase de crecimiento. Los niveles de expresión de *lrp* son los mismos o ligeramente mayores en cepas con mutaciones en los genes *rpoS*, *cya* o *crp* en las mismas condiciones de crecimiento, esto sugiere que ni el factor σ^s, ni el complejo AMPc-CRP se requieren para la expresión. Solamente en células con mutaciones en los genes *relA* y *spoT*, que no pueden sintetizar ppGpp (nucleótido que aumenta como señal a la limitación de fuentes de aminoácidos y energía, y que también varía con la tasa de crecimiento), no se observó expresión de *lrp* (15).

Algunos estudios (14) han demostrado que Lrp también reprime la expresión de *osmY* en medio mínimo, en donde la expresión de rpoS se induce, implicando a Lrp y σ^s como mecanismos de control que se sobreponen. Lrp actúa como un regulador negativo de OsmY en la fase de transición de la logarítmica a la estacionaria en un medio rico de manera similar a la función de CRP.

El factor de integración IHF es una nucleoproteína, similar a una histona, que presenta una gran variedad de funciones. Esta proteína fue originalmente identificada como un factor relacionado con la recombinación sitio-específica del bacteriófago λ, sin embargo, también se le ha relacionado con fenómenos de transposición, replicación y transferencia de plásmidos y como un efector positivo o

negativo en el inicio de la transcripción de algunos genes (5). IHF presenta actividad de doblamiento de la doble cadena del ADN, que puede ser crucial para el arreglo adecuado de los otros componentes regulatorios en todos estos procesos. El papel de IHF en la regulación de genes dependientes de la fase estacionaria no se restringe a genes controlados por σ^s.

La regulación de genes inducidos durante la fase estacionaria está controlada por muchos factores además de σ^s y genes diferentes están bajo el control de combinaciones diferentes de reguladores. Por ejemplo, *OsmY* está regulado bajo el control positivo de σ^s y controlado negativamente por AMPc-CRP, Lrp y el factor IHF, mientras que *csiD* está controlado positivamente por σ^s, AMPc-CRP y Lrp (5). De ahí que los genes dependientes de σ^s presenten patrones muy diferentes de expresión.

CONCLUSIONES

La regulación de la expresión de genes en la fase estacionaria de crecimiento resulta muy compleja debido a que existen mecanismos de control que se sobreponen total o parcialmente. El reto en los estudios de regulación está en distinguir el impacto de los elementos individuales de control claramente definidos para cada regulón entre estos mecanismos que se sobreponen.

Los patrones reguladores que involucran al factor σ^s son muy diversos y hasta este momento no se puede generalizar. Aún deben ser identificados muchos de los genes controlados por σ^s. Además, cada gen u operón identificado puede estar controlado por un patrón único de factores reguladores que tendrán que ser examinados. Más aún, no han sido completamente definidos los factores que controlan la expresión y la acumulación de σ^s.

REFERENCIAS

1. Kolter R, Siegele D A y Tormo A (1993) The stationary phase of the bacterial life cycle. Annu Rev Microbiol *47*:855-874.

2. Lange R y Hengge-Aronis R (1991a) Growth phase-regulated expression of *bolA* and morphology of stationary phase *Escherichia coli* cells are controlled by the novel sigma factor s^s. J Bacteriol *173*:4474-4481.

3. Balke V L y Gralla J D (1987) Changes in the linking number of supercoiled DNA accompany growth transitions. J Bacteriol *169*:4499-4506.

4. Moyer C L y Morita R Y (1989). Effect of growth rate and starvation survival on the viability of a psychrophilic marine bacterium. Appl Environ Microbiol 55:1122-1127.

5. Lowen P C y Hengge-Aronis R (1994) The role of the sigma factor σ^s (KatF) in bacterial global regulation. Annu Rev Microbiol *46*:53-80.

6. Nyström T (1993) Global systems approach to the physiology of the starved cell. En "Starvation in bacteria". Editor: Kjelleberg S. Plenum Press, NY, USA, p.81-102.

7. Mulvey M R Switala J, Borys A y Lowen P C (1990) Regulation of transcription of *Kat*E and *Kat*F in *Escherichia coli.* J Bacteriol *172*:6713-6720.

8. Lange R y Hengge-Aronis R (1991b) Identification of a central regulator of stationary-phase gene expression in *Escherichia coli*. Mol Microbiol *5*:49-59.

9. McCann M P, Fraley C D y Matin A (1993) The putative σ factor *Kat*F is regulated posttranscriptionally during carbon starvation. J Bacteriol *175*:2143-2149.

10. Hengge-Aronis R (1996) Back to log phase: σ^s as a global regulator in the osmotic control of gene expression in *Escherichia coli.* Mol Microbiol *21*:887-893.

11. Dukan S y Touati D (1996) Hypochlorous acid stress in *Escherichia coli*: resistance, DNA damage, and comparison with hydrogen peroxide stress. J Bacteriol *178*:6145-6150.

12. Muffler A, Mechthild B, Marschall C y Hengge-Aronis R (1997) Heat shock regulation of σ^s turnover: a role for DnaK and relationship between stress responses mediated by σ^s and σ^{32} in *Escherichia coli*. J Bacteriol *179*:445-452.

13. Weichart D, Lange R, Henneberg N y Hengge-Aronis R (1993) Identification and characterization of stationary phase-inducible genes in *Escherichia coli.* Mol Microbiol *10*:407-420.

14. Lange R , Barth M y Hengge-Aronis R (1993) Complex transcriptional control of the σ^s –dependent stationary phase-induced and osmotically regulated *osmY* (*csi*-5) gene suggests novel roles for Lrp, cyclic AMP (cAMP), receptor protein-cAMP complex, and integration host factor in the stationary phase response of *Escherichia coli*. J Bacteriol *175*:7910-7917.

15. Landgraf J R, Wu J y Calvo J M (1996) Effects of nutrition and growth rate on Lrp levels in *Escherichia coli*. J Bacteriol *178*:6930-6936.

LA RESISTENCIA DE LAS PLANTAS A LA INFECCIÓN VIRAL

Juan Manuel Vivero[1,2] y José Víctor Calderón Salinas[2]. [1]Departamento de Biología, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología IPN. México. Av. Acueducto s/n barrio La Laguna Ticomán. México, DF, CP 07340. [2]Departamento de Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados IPN, AP 14-740, México, DF, CP 07000.

RESUMEN

Las infecciones virales en las plantas causan grandes pérdidas a la agricultura; los virus son transmitidos por diversos vectores biológicos, por lo cual, los métodos de tratamiento y prevención consisten en el uso de herbicidas, plaguicidas y la protección mecánica de la planta. Estas medidas además de ser costosas y poco eficientes, originan serios problemas al ecosistema y contaminan el producto agrícola. Es por lo anterior que en las últimas dos décadas, se ha incrementado el interés en el estudio y la caracterización de plantas resistentes naturales y desde 1986 se inició el desarrollo de plantas transgénicas que resisten a las infecciones virales. Los resultados hasta el momento no han sido del todo satisfactorios, pero la mejor comprensión de la fisiología de la planta y de la fisiopatología de la infección viral, mejorarán los resultados de estas investigaciones y harán que el futuro de este tipo de tecnología sea muy alentador. En el presente trabajo, se hace una revisión de los conocimientos que actualmente se tienen sobre los mecanismos de infección viral en las plantas y la resistencia que muestran éstas de manera natural o inducida por la intervención del hombre. Como se discutirá hay más interrogantes que conclusiones y esto hace aún más fascinante el internarse en este campo.

PALABRAS CLAVE: Virus, plantas, resistencia, transgénicas.

ABSTRACT

The viral infections in plants cause a very important agriculture damage; The viruses are transmitted by different biological vectors; therefore treatment and prevention methods are based on herbicides, plaguicides and mechanic protection. These methods are expensive, inefficient and they produce contamination of the harvest and the ecosystems. In the last two decades the interest on the study and characterization of natural viral resistant plants has increased. The development of transgenic resistant plants, to the viral infection, began in 1986. The results have not been completely satisfactory. Nevertheless, a better understanding of the physiology of the plant and of the physiopathology of the viral infection will improve the results of this research and of the required technology. This work reviews the current knowledge about the mechanisms of viral infections in plants and their natural or induced resistance. There are more questions than conclusions and this makes the study of this area fascinating.

KEY WORDS: Plant virus, transgenic plants, resistance.

INTRODUCCIÓN

Las virosis, son infecciones, que pueden afectar, entre otros organismos a las plantas, éstas se han convertido en uno de los problemas fitosanitarios más importantes en el mundo, debido a que causan considerables pérdidas en la agricultura. La amplia distribución de las infecciones virales, disminuye la rentabilidad de los cultivos y provoca que grandes zonas agrícolas sean abandonadas o destinadas para otros fines. En México existen múltiples ejemplos al respecto, uno de ellos es el Valle de Tepalcatepec, en el Estado de Michoacán, que a causa de las infecciones originadas por 4 o 5 tipos de virus, dejó de ser una de las principales zonas productoras de melón de exportación y se ha convertido en una región con muy baja productividad, que surte sólo a un mercado local o a lo más nacional, lo que llevó a cambiar a otros cultivos con mucho menor éxito (1). Otro ejemplo, esta vez en Cuba, es el caso de las virosis que afectan al coco y al ñame, que dañan severamente a dos cultivos que son parte esencial de la pirámide alimenticia y económica del pueblo Cubano (2).

El estudio de las virosis en las plantas, representa un reto importante en el desarrollo de medidas fitosanitarias de control de plagas, pero además y

de manera sobresaliente, de una fuerte inversión en investigación biotecnológica aplicada y en investigación básica, que permita conocer mejor a los virus, sus formas de infección, de duplicación, de migración dentro de la planta y todos los procesos patológicos que originan, de los cuales apenas se tiene un conocimiento parcial. Sin embargo, no sólo debe profundizarse en la patología del virus, también se debe dar énfasis especial a la fisiología de la planta, la fisiopatología de respuesta a la infección, las formas de defensa y los elementos naturales que definen la especificidad, la susceptibilidad y en general la compleja relación planta-patógeno.

LA EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN

Los virus de las plantas se diseminan por diversos vectores biológicos (insectos, hongos, nemátodos, etc), no se ha encontrado, hasta el momento, otro mecanismo por el cual el virus pueda dispersarse. Los virus no tienen la capacidad de cruzar las barreras físicas externas de la planta (cutículas), las cuales actúan como un mecanismo de defensa. Esta imposibilidad de penetrar hace que la infección se logre principalmente con la ayuda de un vector que lo inyecta en el interior de los fluídos de la planta. Para lograr una infección de manera artificial en el laboratorio, se requiriere provocar una lesión en la planta con algún abrasivo tal como el carborundum, con la punta de una jeringa o con un cepillo de cerdas finas.

La planta puede ser contaminada con el virus por alguno o varios de los vectores, durante diferentes etapas del ciclo agrícola, principalmente en las más tempranas del crecimiento. Los vectores se contaminan con el virus a partir de reservorios naturales tales como malezas y plantas perennes nativas del lugar, organismos que viven más tiempo que la planta cultivada y tienen una resistencia parcial al virus o un periodo de recambio muy alto, lo que provoca que se regeneren más rápidamente que el tiempo que requiere la infección viral para causar daño.

Es por lo anterior que para el control de las virosis se han utilizado métodos que tratan de evitar la contaminación de la planta con la partícula infectante; por ejemplo, el uso de insecticidas para el control de los vectores, herbicidas para el control de los reservorios naturales o la protección física de los cultivos en etapas tempranas de su desarrollo para evitar que el vector infeste a la planta.

Estas medidas de control, además de que son costosas y de que en algunos casos no son del todo eficientes, generan otros problemas, como son; el empobrecimiento del suelo, por la pérdida de nutrientes, la disminución en la capacidad de movilización de estos o la acumulación de sustancias tóxicas para los vegetales, con la consecuente disminución en el rendimiento de la cosecha; la contaminación de los mantos acuíferos; así como, el daño y la contaminación química de los productos agrícolas. Todo esto genera un impacto socioeconómico negativo.

Actualmente se investigan y desarrollan nuevas alternativas para el control de las infecciones vírales en los campos agrícolas, fundamentalmente en dos vertientes: 1) Por medio de la propagación de plantas que muestran resistencia natural y 2) Con el uso de plantas transgénicas, en las que se insertan genes a la planta que originan la resistencia. Ambos enfoques han sido utilizados a nivel experimental y algunos resultados de los mismos ya han sido aplicados a nivel agrícola; sin tener, hasta el momento, resultados del todo efectivos, posiblemente debido, en mucho, al desconocimiento de los aspectos básicos de la infección y de la respuesta de la planta a ésta.

MECANISMOS DE INFECCIÓN VIRAL

a) LA ENTRADA DEL VIRUS A LA CÉLULA

Los mecanismo por los cuales los virus inician la infección de las células de una planta, no han sido totalmente elucidados y han sido explicados con base en aspectos mecánicos. Se ha propuesto que el ingreso a las células, se debe únicamente a la inyección del virus a éstas por el vector (3), lo cual no requiere una gran especificidad; esto indicaría que el virus podría, en principio, ingresar y ser capaz de producir la infección en cualquier célula que fuera inyectado, situación que no se observa en la práctica. La hipótesis de la inyección a las células individuales, como mecanismo de ingreso e infección, tampoco explica cómo es que el virus puede diseminarse por el resto de las células de la planta cuando se generaliza la infección.

Todo parece indicar que, en efecto, el primer contacto con el virus es exclusivamente mecánico y gracias al vector, lo cual permite romper la cutícula y la pared de las células de la planta. Sin embargo, no todos los virus que penetran esta capa son,

necesariamente inyectados en el interior de una célula; una buena parte de los virus quedarían en el interior de la planta y fuera de una célula, en el espacio extracelular o apoplasto; pero aun los virus que se inyectan en el interior de una célula requieren, seguramente, de una serie de mecanismos que les permitan establecer algún tipo de reconocimiento con ciertas moléculas, para iniciar los procesos que llevarán a la duplicación, la reconstitución y la diseminación del propio virus.

Dicha diseminación es necesaria, debido a que, independientemente de cualquier mecanismo de ingreso que se invoque, sólo unas cuantas células serían infectadas, por lo cual se debe originar de éstas una población de viriones infectantes y distribuirse a través del simplasto a toda la planta. La especificidad del virus por su hospedero, aun cuando no es tan grande para las plantas como para otros organismos, debe tener su base en diferentes mecanismos de reconocimiento, de unión, de penetración y de desnudamiento, antes de iniciar la duplicación dentro de la célula infectada; todo lo cual debe incluir algunas interacciones entre las proteínas de la cubierta del virus y diversas macromoléculas (proteínas y glucoproteínas) de las células de la planta, de manera similar a como sucede con otras células de eucariotos (4).

La existencia de moléculas específicas del virus que permiten el reconocimiento de las células del hospedero, la unión, la entrada, el desnudamiento y la duplicación, ofrecen la posibilidad de que una vez que sean conocidos y caracterizados estos fenómenos, éstos puedan ser interferidos de manera efectiva para evitar la infección.

Se ha encontrado que muchos virus, para poder diseminarse, requieren salir al espacio intercelular y reconocer a la célula hospedera, casi todos los virus que infectan animales requieren de este mecanismo. Desde hace tiempo, se ha demostrado la presencia de virus en la corriente del floema y en los espacios del apoplasto, en tiempos posteriores a la infección experimental de un número limitado de células de la planta (4). Este reconocimiento se efectúa por medio de una unión carbohidrato-carbohidrato o carbohidrato-proteína, en este sentido se ha encontrado la unión carboxilo-alanina entre glucoproteínas de la membrana de algunas células de animales con las proteínas de las cubiertas de varios virus (5). De la misma manera, se han demostrado mecanismos de este nivel de especificidad para el virus de la rabia, el de la influenza, HIV (6) y otros muchos más.

La identificación de la célula blanco por el virus, inicia los fenómenos de entrada a la célula y de desnudamiento, esto es la pérdida de la cubierta proteica que hace posible que el ácido nucleico (ADN o ARN), pueda empezar su duplicación en la célula infectada. Una posibilidad es que el virus penetre íntegro a las células y ya en el interior se desnude, lo cual incluye la entrada del virus por endocitósis, su desnudamiento en el interior, ya sea en la membrana del tonoplásto o de algún otro orgánulo; este fenómeno también, requiere la presencia de una molécula de reconocimiento que induzca el proceso en el interior de la célula. La otra posibilidad es que el virus interaccione con la membrana plasmática y permita el ingreso del ácido nucleico por medio de la formación de un poro en la membrana, constituido por la fusión de proteínas del propio virus con los lípidos o algunas proteínas de la membrana de la célula; lo cual requiere de un receptor en la membrana plasmática de la célula. De este modo, dicha interacción de la membrana con el virus permite el desnudamiento del virus y la entrada de su ácido nucleico.

En el caso de los virus de las plantas, no se sabe cuál de los dos mecanismos funcionan, la biología celular y la bioquímica de estos procesos, están aun en espera de ser aclaradas.

b) LA DUPLICACIÓN DE LOS VIRUS

La duplicación de los virus de plantas es similar a la de los virus de otros eucariotos. Una vez dentro de la células el ácido nucleico del virus es transcrito y traducido por la maquinaria de la propia célula infectada y se inicia la duplicación de su material genético, del que forma un gran número de copias (de cientos a miles) y sintetiza las proteínas necesarias para la duplicación y para el ensamblaje del virión, lo que convertirá al virus en una partícula infectante. En síntesis el virus penetra a las células y en ellas se reproduce .

Las plantas, como otros organismos, pueden ser infectadas por virus de ADN y de ARN, los cuales se diferencian en su sistema de duplicación. Los

geminivirus (virus-ADN de plantas), inducen la síntesis de una duplicasa del ADN, aparentemente en el núcleo de la célula en donde se copia directamente el ADN viral y forma una cantidad determinada de estas moléculas, dicho proceso requiere el desenrollamiento de la cadena del ADN, ya que los virus-ADN de plantas descritos hasta el momento son de doble cadena. Cada una de las cadenas se duplica y sale del núcleo para el ensamblaje del virión.

Los virus-ARN de plantas pueden ser de doble cadena, de cadena sencilla positiva o de cadena sencilla negativa. Los tres casos dependen de una duplicasa, codificada por el ARN del virus que se sintetiza de manera temprana en la célula infectada. Los virus-ARN de doble cadena se duplican de manera convencional, los de cadena sencilla requieren hacer primero plantillas de signo contrario para su posterior duplicación. Para la síntesis de proteínas su ARN se utiliza directamente como ARN mensajero (3).

Los virus tienen sistemas que evitan la reinfección de una célula, esto es que un virus de un tipo determinado no penetre o no inicie su duplicación, una vez que otro virus del mismo tipo ha infectado a la célula. Experimentalmente se ha encontrado que una vez que un virus entra a una célula e inicia su duplicación, existe un mecanismo que bloquea no sólo la entrada de otros virus del mismo tipo, sino que bloquea la entrada de otros virus relacionados serológica o molecularmente (7), fenómeno que podría significar un bloqueo de algún sitio de reconocimiento, de entrada o la alteración de algún mecanismo temprano de infección aún no definido para las plantas.

c) EL ENSAMBLAJE VIRAL Y EL DAÑO CELULAR

En raras ocasiones, los virus de las plantas pueden provocar la lisis de las células; la mayoría de las veces causan daño a los orgánulos de la célula, sin destruirla; se han observado daños en los cloroplastos que se convierten en amiloplastos y degeneración de los tonoplastos.

En etapas tardías de la infección, se sintetizan las proteínas de la cápside y, aparentemente, al confluir en el citoplasma de la célula con el ácido nucleico viral interaccionan espontáneamente, y se ensamblan para formar el virión (8). Una vez ensamblados los viriones se diseminan, en el menor número de los casos, por ruptura de la célula, que no explota como la células de los animales debido a la presencia de la pared celular. Es más frecuente la dispersión a través de los canales intercelulares que resulta en la invasión de un mayor número de células.

RESISTENCIA NATURAL A LA INFECCIÓN

Tanto en la experiencia del trabajo agrícola, como en la agricultura experimental, es posible identificar individuos resistentes a la infección por un determinado tipo de virus. Estas plantas son seleccionadas y reproducidas, haciéndose las cruzas necesarias para lograr ejemplares resistentes y con una buena producción.

Se ha logrado identificar un gen, con características autosómicas dominantes, que influye en la resistencia del melón al virus del mosaico de la sandía II (9). También se han encontrado diferentes especies de plantas que ante la infección con virus, se comportan como tolerantes o que permiten una infección moderada con poca duplicación viral sin daño celular (7) y en las que se han observado características genéticas dominantes, recesivas o debidas a múltiples genes (inmunidad de Arlington).

Sin embargo, aun y cuando se han identificado algunos patrones hereditarios, relacionados con la resistencia natural a los virus, los mecanismos fisiopatológicos y moleculares que participan en la resistencia no han sido esclarecidos.

¿Qué bases genéticas y bioquímicas pueden estar detrás de esta inmunidad natural? De acuerdo a la fisiopatología de la infección, se podrían mencionar varias posibilidades: a) un bloqueo en la entrada del virus a la célula debido a una barrera mecánica, a la carencia de una molécula y/o sitio de reconocimiento y a una estructura inadecuada en el sitio o mecanismo de ingreso a la célula; b) al bloqueo del desnudamiento por la presencia de algún factor que así lo condicione; c) el bloqueo de la síntesis de la duplicasa viral o el impedimento de su acción (desde factores fisicoquímicos hasta la presencia de otras moléculas que lo bloqueen) y d) la existencia de algún factor que impida el ensamblaje del virión y la acción de las proteínas que participan en la traslocación.

El conocimiento de los mecanismos que operan en la resistencia natural, no sólo permitirá lograr plantas resistentes y combinar estas resistencias con una mayor producción, sino también diseñar nuevas variedades de plantas fisiológicamente más viables.

RESISTENCIA INDUCIDA

La necesidad de tener métodos adecuados para el control de las virosis de plantas, los cuales permitan resolver los grandes problemas que causan estas enfermedades a los productos agrícolas y la relativa facilidad del manejo genético de las plantas, ha provocado que a partir del año de 1986, se inicien múltiples investigaciones con herramientas de ingeniería genética, para obtener plantas resistentes a la infección.

El trabajo de Powell-Abel y colaboradores en 1986 (10), demostró que la inserción y la expresión del gen de una proteína de la cubierta del virus del mosaico del tabaco a una planta de tabaco, la hace resistente a la infección por este virus; a partir de entonces, varios investigadores han trabajado con diferentes plantas, con distintos virus y con diversas proteínas del virus, y han desarrollado plantas transgénicas, es decir, plantas a las que se les inserta la información genética de alguna proteína del virus. Los resultados han sido muy variables, se ha encontrado resistencia total y permanente, resistencia total pero pasajera, resistencia parcial e incluso resistencia a la infección para virus diferentes, pero relacionados, a los del material genético insertado. (11,12 y 13)

La resistencia en algunos casos es sumamente específica, esto es que solamente se confiere resistencia contra la infección por el virus del que se deriva el gen insertado, lo cual es evidencia de un sistema específico de reconocimiento. Aunque en algunos otros casos, se ha encontrado que un gen de un cierto virus también confiere resistencia contra virus relacionados serológica o bioquímicamente, lo que podría indicar sistemas de reconocimiento compartidos por varios virus.

Se ha observado que la resistencia es dependiente de la concentración del virus con el que se infecta una planta, ya que, si esta cantidad sobrepasa cierto límite, la planta comienza a manifestar infección, misma que puede tardar más tiempo en presentarse que en las plantas no modificadas.

A pesar de que no se conocen con profundidad los mecanismos por los cuales la expresión del gen en la planta puede inducir la resistencia, se han presentado algunas hipótesis para explicar este fenómeno. Una posibilidad que se ha invocado es que la expresión en la planta de una proteína del virus, es capaz de bloquear un paso temprano de la infección, algunos autores han propuesto que el proceso de desnudamiento del virus es el que se ve afectado (14 y 15). Sin embargo otros procesos, tales como el reconocimiento y la penetración del virus podrian verse afectados. En cualquiera de los casos se intuye que el mecanismo por el cual una molécula del virus expresada en una planta podría protegerla, es por medio de un fenómeno de competencia o de bloqueo, de tal manera que algún sitio de reconocimiento o algún receptor, fuera saturado por la expresión de la proteína dentro de la planta y que el virus no pueda establecer la interacción necesaria para iniciar el proceso de infección.

Otra explicación que se ha propuesto es que la migración del virus esté alterada, lo cual lo imposibilita para generar una infección generalizada (13). Esto podría deberse a una falla en los mecanismos de ensamblaje, de migración o de ingreso a una nueva célula.

Lo anterior hacer pensar que el o los mecanismos de resistencia deben afectar a los patrones complejos de reconocimiento inicial en la interacción virus-célula, ya que al encontrarse cierta concentración de las proteínas de la cubierta del virus, de la duplicasa viral dentro de la célula o en su membrana plasmática, puede generarse una modificación de los sitios receptores, los cuales pueden bloquearse o saturarse, lo que provoca que el virus no se una o no sufra las modificaciones necesarias para su ingreso a la célula que permitan su desnudamiento para iniciar la duplicación o para iniciar su ensamblaje. Sin embargo, estas hipótesis no han sido suficientemente exploradas, lo cual en parte, se debe a que no se conoce lo suficiente de la fisiopatología de la infección.

Lo anterior plantea una pregunta ¿el virus es capaz de bloquear el ingreso y el proceso de infección cuando ya hay una cierta cantidad de virus que ha infectado una célula? Experimentalmente parece ser que la respuesta es sí. Sin embargo, en el caso

de las plantas transgénicas ¿qué posibilidad tiene el virus de entrar e infectar a una célula, una vez que existe una proteína endógena idéntica a la de su cubierta o a la de su duplicasa? Contestar esta pregunta daría no sólo la información necesaria para continuar desarrollando plantas transgénicas, sino que permitiría plantear otras posibilidades de prevención y tratamiento de las infecciones virales.

PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN

Existe mucho por estudiar respecto a las virosis de las plantas y a la resistencia como un método de prevención y control, es necesario continuar trabajando en el campo de la biotecnología en la obtención de diferentes variedades de plantas transgénicas y sobre la propagación de plantas con resistencia natural. Sin embargo, no deben descuidarse los aspectos básicos que permitan entender la biología de los fenómenos. Es necesario estudiar si es el bloqueo de un mecanismo de reconocimiento en la interacción virus-célula hospedera en las etapas tempranas de la infección, lo que puede conferir resistencia a una planta.

Otros caminos, serían el estudio de los mecanismos que participan en la resistencia natural a la infección, lo que ayudará a entender la participación de algunas macromoléculas en los procesos de identificación, unión y entrada del virus a las células, así como, los de la migración del virus dentro de la planta.

El camino es evidentemente largo y complicado, la investigación será ardua y seguramente fascinante.

REFERENCIAS

1. Agustin J A, Arteaga-López G, Blancarte-Diaz M, Calderón-Amador J H, López-Prado V, Rivera-Moctezuma D, Rivera-Moctezuma S, Romero-Peñaloza J y Santos-Cervantes C (1994) La producción agropecuaria de la región Valle del Tepalcatepec Michoacán. Universidad Autónoma de Chapingo, México, pp 660.

2. Baez-Escalona M y Gómez-Piñar J (1990) Manual de virología vegetal. Editorial Pueblo. Cuba, pp 204.

3. Smith K M (1977) Plant Viruses. Chapman and Hall, UK, 6ª Ed, pp 241.

4. Helenius A, Kiellan M, Mellman I y Schmid S (1989) Entry of enveloped viruses into their host cells. En: Cell Biology of Virus Entry, Replication and Pathogenicity. Alan R. Liss Inc. NY, pp 145-161.

5. Weiss R A, Sommerfelt M A, McClure M O, Clapham P R y Weber J H (1989) Retrovirus receptor in human cells. En: Cell Biology of Virus Entry, Replication and Pathogenesis. Allan R. Liss Inc. NY, pp 67-74.

6. Deen K C, Arthos J, McDougall J S, Chaikin M, Folena-Wasserman G, Maddon P J, Axel R y Sweet R (1989) Expression, isolation and characterization of secreted forms of the receptor T4: inhibitors of the HIV viruses. En: Cell Biology of Virus Entry, Replication and Pathogenesis. Allan R Liss Inc. NY, pp 67-74.

7. Sterk P y De Jager C P (1987) Interference between cowpea mosaic virus and cowpea severe mosaic virus in a cowpea host immune to cowpea mosaic virus. J Gen Virol *68*: 2751-2758.

8. Himmelbach A, Chapdelaine Y y Hohn T (1996) Interaction between cauliflower mosaic virus inclusion body protein and capsid protein: implications from viral assembly. Virology *217*: 147-157.

9. Webb R E (1979) Inheritance of resistance to watermelon mosaic virus I in *Cucumis melo L.* HortScience *14(3)*: 265-266.

10. Powell-Abel P, Nelson R S, De B-Hoffmann N, Rogers S G, Fraley R T y Beachy R N (1986) Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. Science, *232*: 738-743.

11. Clark W G, Fitchen J, Nejidat A, Deom C M y Beachy R N (1995) Studies of protein coat-mediated resistance to Tobacco mosaic virus (TMV). II. Challenge by a mutant with altered virion surface does not overcome resistance conferred by TMV coat protein. J Gen Virol *76*: 2613-2617.

12. Clark W G, Fitchen J H y Beachy R N (1995) Studies of coat protein-mediated resistance to TMV. I. The PM2 assembly defective mutant confers resistance to TMV. Virology *208*: 485-491.

13. Carr J P, Gal-On A, Palukatis P y Zaitlin M (1994) Replicase-mediated resistance to cucumber mosaic virus in transgenic plants involves suppression of both virus replication in the inoculated leaves and long distance movement. Virology *199*: 439-447.

14. Register III J C y Beachy R N (1988) Resistance to TMV in transgenic plants results from interferance with an early event in infection. Virology *166*: 524-532.

15. Wu X, Beachy R N, Wilson T M A y Shaw J G (1990) Inhibition of uncoating of tobacco mosaic virus particles in a protoplasts from transgenic tobacco plants that express the viral coat protein gene. Virology *179*: 893-895.

EL DR ENRIQUE PIÑA GARZA ES DESIGNADO PROFESOR EMÉRITO DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

El 9 de septiembre de 1998 el Dr Francisco Barnés de Castro, Rector de la Universidad Nacional Autónoma de México, presidió la ceremonia en la que el Dr Enrique Piña Garza recibió la investidura de Profesor Emérito. Esta designación fue otorgada al Dr Piña en la sesión ordinaria del pleno del Consejo Universitario el 8 de julio próximo pasado ante la propuesta hecha por el Consejo Técnico de la Facultad de Medicina.

El Dr Piña que actualmente es Director General de Estudios de Posgrado en la UNAM, inició su labor docente hace 41 años, siendo todavía estudiante de la licenciatura de Medicina en la UNAM, primero como instructor de prácticas en el Departamento de Bioquímica, posteriormente como profesor adjunto y finalmente como Investigador Titular en el año de 1966. En 1968 recibió el Doctorado en Bioquímica de la Facultad de Química de la UNAM después de haber formado parte en Nueva York del grupo de trabajo del Dr Eduard Tatum, Premio Nobel 1958. El Dr Piña posteriormente ha tenido estancias posdoctorales en Estados Unidos, Alemania y Chile.

Es poseedor de una formación académica muy sólida, a la fecha tiene 59 artículos publicados en revistas internacionales con comité editorial y 63 artículos publicados en revistas nacionales, del mismo modo que ha participado como ponente en 71 congresos internacionales y en 141 nacionales. Ha sido tutor y director de 14 tesis de licenciatura, 10 de maestría y 4 de doctorado además de 5 estudiantes que están por obtener su grado de maestría o doctorado.

El Dr Piña ha demostrado tener una alta capacidad de liderazgo al ocupar con eficiencia cargos administrativos dentro de la Facultad de Medicina, pues ha sido durante 4 periodos diferentes Jefe de Departamento de Bioquímica, ha sido también Consejero Técnico y Secretario General de la Facultad. Además de todo lo mencionado el Dr Piña tiene una visión académica global ya que ha desempeñado con éxito otros cargos como es el de Secretario Académico del Sistema de Universidad Abierta de la UNAM y Secretario General de Investigación en Salud de la Secretaría de Salud, sumados al que actualmente ocupa.

Uno de los aciertos del Dr Piña es la capacidad que ha tenido para captar oportunamente a estudiantes recién ingresados a la Facultad e incorporarlos a la investigación científica; desde 1971 al ser Jefe de Departamento abrió las puertas de los laboratorios cuando estableció un programa ininterrumpido con objeto de captar los mejores candidatos a la investigación. Mas adelante sus esfuerzos fueron ampliados a toda la Facultad con lo que se instrumentó el Programa de Integración Temprana a la investigación de los estudiantes destacados en la Facultad de Medicina (ITIEM), además del Programa de Apoyo y Fomento a la Investigación Estudiantil (AFINES). Con este tipo de programas uno de los propósitos académicos logrados por el Dr Piña es que los estudiantes, al tener un conocimiento básico más sólido puedan desenvolverse mejor, ya como profesionistas, en el campo de la medicina de su elección. De igual manera tiene una gran capacidad para descubrir vocaciones en los jóvenes alumnos que van a dedicar su vida a la investigación básica; un buen número de ellos se encuentran en centros de investigación en el extranjero, otros ocupan puestos importantes dentro de las instituciones de investigación y docencia en el país.

Con sus 41 años de profesor de la Facultad de Medicina, independientemente de los cargos que ha desempeñado siempre ha dado clase en licenciatura, a la fecha ha fungido como Profesor Titular de 58 grupos de la materia de bioquímica y se le considera uno de los mejores profesores de la Facultad. Ha intervenido en el análisis y establecimiento de diferentes programas y planes de estudio en la Facultad de Medicina. El Dr Piña ha tenido una participación constante como profesor de

posgrado ya que ha impartido cursos y ha sido tutor académico de alumnos de Maestría o Doctorado de las Facultades de Medicina, Química y Ciencias de la UNAM desde 1968 hasta la fecha.

Como una forma complementaria, el Dr Piña se ha preocupado de la difusión del conocimiento científico ya que es coautor de las dos últimas ediciones del libro de Bioquímica compartiendo créditos con el Dr José Laguna, dicho libro tiene una amplia difusión en las escuelas profesionales del país en donde se enseña esta disciplina; coautor de un libro más; coeditor de dos libros; ha escrito 5 capítulos en libros de publicación internacional y 18 capítulos en libros nacionales.

Su iniciativa en la actualización de profesores de Bioquímica a nivel nacional, ha sido un ejemplo para el resto de la Universidad; en este programa ha recibido apoyo de la SEP, ANUIES, CONACyT, así como de diversas universidades estatales. Como constancia de esta actividad promovida por él, está el Taller de Actualización Bioquímica que durante su gestión como Jefe de Departamento se inició en 1974 y se ha realizado como una actividad anual sin interrupciones dando apoyo académico a través de 25 años a cientos de profesores del país y de algunas Universidades Latinoamericanas.

El Dr Piña ha sido promotor de la publicación de dos obras de aparición periódica: una de ellas es el Mensaje Bioquímico, editado anualmente por la Facultad de Medicina desde 1978 y que en sus páginas contiene en forma de capítulos los temas tratados en el correspondiente Taller de Actualización Bioquímica y que sirve como apoyo para profesores y estudiantes en el estudio de la bioquímica en el país. También el Dr Piña en 1982, fue el promotor del Boletín de Educación Bioquímica, apoyada inicialmente por la Facultad de Medicina y como se menciona en esta revista, es actualmente el órgano de comunicación entre los miembros de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C. (AMPB, AC). También fue el Presidente Fundador de la AMPB, AC y ha sido designado por el Consejo Directivo de la Asociación como Editor Fundador.

Su trabajo y dedicación han sido ampliamente reconocidos por la comunidad científica, la cual le ha otorgado los premios: "Eduardo Liceaga" de la Academia Nacional de Medicina, "Doctor Miguel Otero" del Consejo de Salubridad General y el Premio Universidad Nacional 1993.

Además es miembro de trece sociedades científicas entre las que destacan la Academia Nacional de Medicina, la Academia de Investigación Científica, la Sociedad Mexicana de Bioquímica de la cual fue Presidente y la Pan-American Association for Biochemistry and Molecular Biology de la cual fue Tesorero.

Todas las acciones y cualidades antes mencionadas aunadas a su integridad, alto nivel académico, entusiasmo, entrega y su gran calidad humana fueron los pilares para la designación que la Universidad Nacional Autónoma de México hace al Dr Enrique Piña como Profesor Emérito.

Yolanda Saldaña Balmori
Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina, UNAM

DR ENRIQUE PIÑA GARZA

Profesor Emérito de la Facultad de Medicina y fundador del BEB y de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica

El Dr Enrique Piña Garza fue nombrado Profesor Emérito de la UNAM en reconocimiento a su larga trayectoria dedicada a la enseñanza de la bioquímica. El Dr Piña logró concretizar su dedicación y entusiasmo por apoyar la docencia, entre otras cosas, en su vínculo con el BEB y nuestra Asociación. Hay que recordar que el Dr Enrique Piña fue un participante esencial en la creación del Boletín de Educación Bioquímica, y posteriormente, en la fundación de nuestra Asociación.

Con el propósito de recordar la filosofía que alentó al Dr Piña a crear el BEB a continuación se reproduce una parte del editorial del primer número de nuestro Boletín, que escribiera el Dr Piña hace 16 años:

> "...¿cuál puede ser la razón de ser de esta publicación, bautizada como Boletín de Educación Bioquímica (BEB)? Nace a solicitud de varios profesores de bioquímica de la República Mexicana. El Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM organiza anualmente, desde hace 8 años, un Taller de Actualización Bioquímica al cual asisten profesores de la materia residentes en varios estados de la República. En los últimos 3 Talleres, distintos grupos de profesores han pedido algo semejante a este Boletín. En consecuencia, más que ser una publicación periódica, aspira a ser un servicio y un vehículo de comunicación de los estudiantes de bioquímica en México, y eventualmente en los países de habla hispana. Los primeros en estudiar la bioquímica son los profesores, los buenos profesores que con sus conocimientos y ejemplo convencen al alumno. Los buenos alumnos seguirán a los buenos profesores. A ellos el esfuerzo."
>
> Enrique Piña Garza

El BEB y nuestra Asociación han continuado con el apoyo a los "buenos profesores y alumnos" interesados en la bioquímica, continuando con la filosofía planteada originalmente por el Dr Piña en su primer editorial del BEB. Es reconfortante que por esta actitud de servicio y las muchas maneras en que el Dr Piña logró cristalizarla, haya sido distinguido con el nombramiento de Profesor Emérito de la UNAM. Nuestras más calurosas felicitaciones al Dr Piña, profesor de bioquímica y nuestro fundador.

Alejandro Zentella Dehesa
Presidente de la Asociación Mexicana
de Profesores de Bioquímica AC

INFORME DEL XXV TALLER DE ACTUALIZACIÓN BIOQUÍMICA

La Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México apoyó la organización del XXV Taller de Actualización Bioquímica, el cual se realizó del 10 al 15 de agosto del presente año. El Comité Organizador estuvo integrado por los doctores Sara Morales López, Marco Antonio Juárez Oropeza, Juan Pablo Pardo Vázquez y Federico Martínez Montes, miembros del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina (UNAM).

Para este Taller, se inició la difusión con 6 meses de anticipación por medio de la publicación de esta información en el Boletín de Educación Bioquímica, así como por correspondencia personal e institucional. Se invitó a los profesores de todas las universidades del país relacionados con la asignatura de bioquímica y materias afines. Se inscribieron un total de 98 personas y de ellas 52 contestaron la encuesta acostumbrada al finalizar el evento.

El número de asistentes de los diferentes estados de la República fue el siguiente:

Distrito Federal	41	Puebla	10
Veracruz	4	Querétaro	2
Estado de México	5	Sonora	2
Guanajuato	1	Nuevo León	2
Yucatán	1	Oaxaca	13
Jalisco	1	Sinaloa	3
Colima	4	San Luis Potosí	2
Michoacán	1	Chihuahua	5
Campeche	1		

Como en reuniones anteriores las sesiones matutinas del Taller se dedicaron a los temas bioquímicos de actualización, en donde participaron varios investigadores, mientras que en las vespertinas se abordó el tema de la Evaluación de la Enseñanza. La secuencia de exposiciones fue la siguiente:

–El Dr Romeo García Torres, del Instituto Nacional de Cardiología, disertó sobre el síndrome de Alport y sus variantes. Genética molecular.

–El Dr Juan Luis Rendón Gómez, del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, nos actualizó en el tema de la tasa metabólica y tamaño corporal en los vertebrados terrestres.

–La Dra Isabel Baeza Ramírez, de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN, platicó sobre el papel estructural y funcional de los lípidos en las membranas biológicas.

–El Dr Juan C. Díaz Zagoya, del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, revisó el tema de la leptina en el metabolismo de los lípidos.

–El Dr Armando Aranda Anzaldo, de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de México, explicó sobre los órdenes superiores de organización de la cromatina y su relación con la fisiología del núcleo celular.

–El Dr Fernando López Casillas, del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM, disertó sobre el tema el lado obscuro y el lado brillante del TGF-β.

–La Dra Ana María López Colomé, del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM, expuso el tema los receptores para los aminoácidos excitadores y sus segundos mensajeros en la retina.

–La Dra Yolanda Saldaña Balmori, también del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM, explicó los sistemas antioxidantes.

–El Dr Francisco Vianney Ortíz Navarrete, del Centro Médico Nacional del IMSS, abordó el tema del procesamiento y presentación del antígeno.

–El Dr Rogelio Rodríguez Sotrés, del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Química de la UNAM, presentó el tema la síntesis de lípidos en semillas durante su desarrollo.

El Dr Edgar Zenteno, del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM, nos habló de las funciones biológicas de las lectinas vegetales.

–El Dr Carlos Gómez Lojero, del Departamento de Bioquímica del CINVESTAV del IPN, disertó sobre la fotosíntesis.

–Finalmente, el Dr Federico Martínez Montes, del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, hizo una breve reseña del Departamento de Bioquímica en la Ciudad Universitaria. Una mirada a través de su historia.

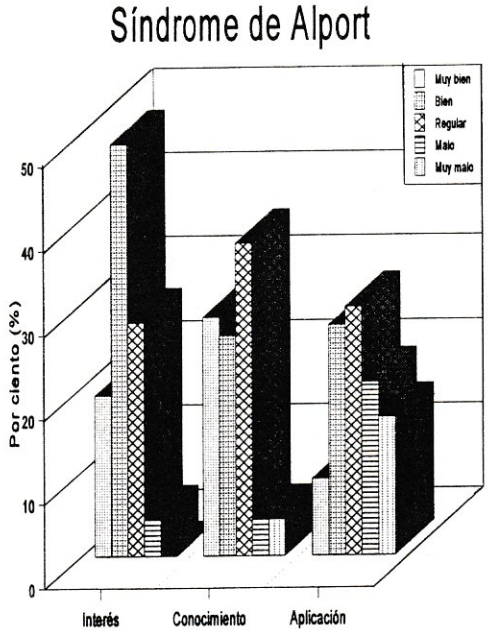
Los ponentes tocaron durante su exposición, los aspectos más relevantes de sus áreas de investigación y dieron una visión general e integral de cada tema, lo cual permitió que, al final de cada participación, se aclararan las dudas de los asistentes, lo que hizo posible una mayor y mejor relación entre los investigadores y los profesores.

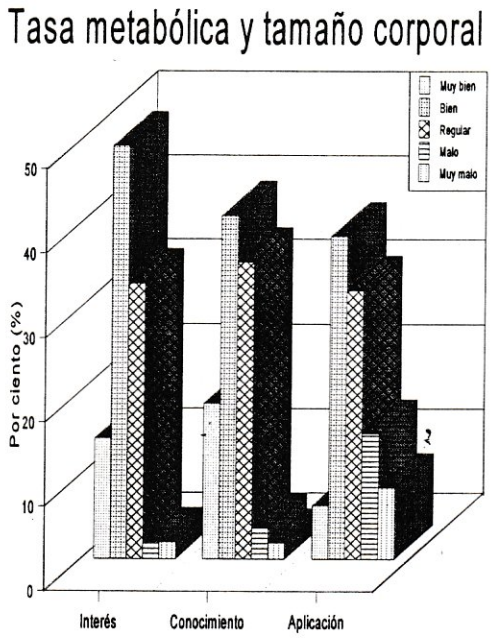
En las sesiones vespertinas la Dra Rosamaría Valle, de la Dirección General de Evaluación Educativa de la UNAM, abordó el tema sobre evaluación de la enseñanza y en torno a éste se trabajó en grupos pequeños integrados por los profesores asistentes.

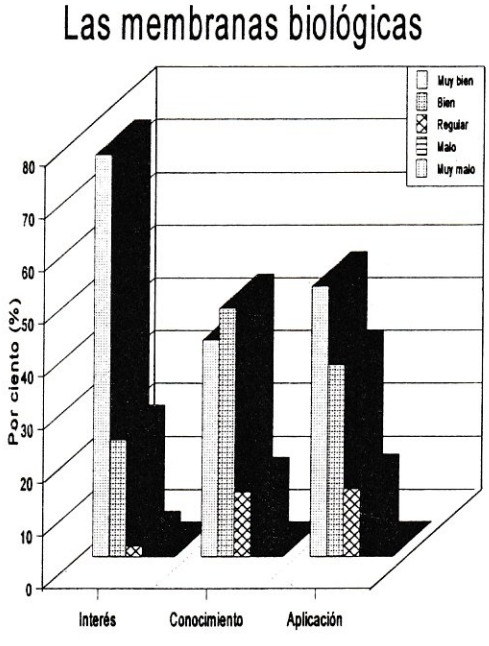
Las ponencias se editaron en el volumen XXI del Mensaje Bioquímico, el cual se distribuyó en el momento del registro de los profesores al Taller y puesto a la venta en la librería de la Facultad de Medicina.

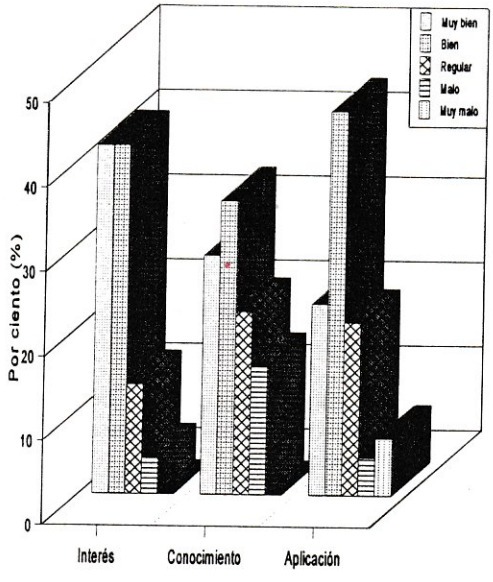
Al finalizar el Taller se realizó una encuesta para evaluar varios aspectos, como son los relacionados con el contenido y aplicación de los temas. Es necesario recalcar la importancia de las encuestas, ya que de éstas se derivan en gran medida los temas que serán tratados en el siguiente Taller. Además, las respuestas permiten analizar

si el Comité Organizador está cumpliendo con sus objetivos. En los resultados de las encuestas contestadas se evaluó el interés de los asistentes en el sentido de qué tanto lo motivó un tema particular para posteriormente seguir estudiando dicho tema. El conocimiento se evaluó con base al porcentaje en que éste incrementó en los encuestados. Finalmente, la aplicación se refiere al porcentaje en que cada encuestado considera que las pláticas le ayudarán en sus actividades docentes. De las encuestas realizadas, podemos concluir que los temas cubrieron adecuadamente los tres rubros, obteniendo los resultados observados en las figuras:

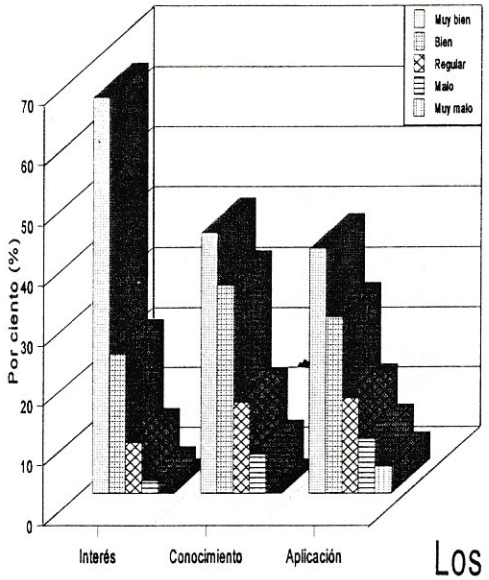




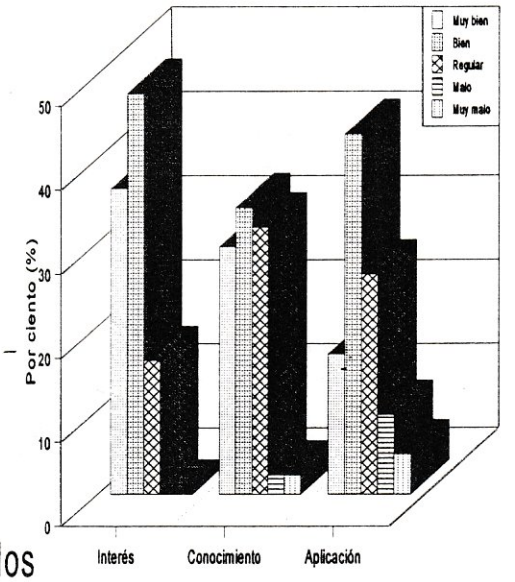




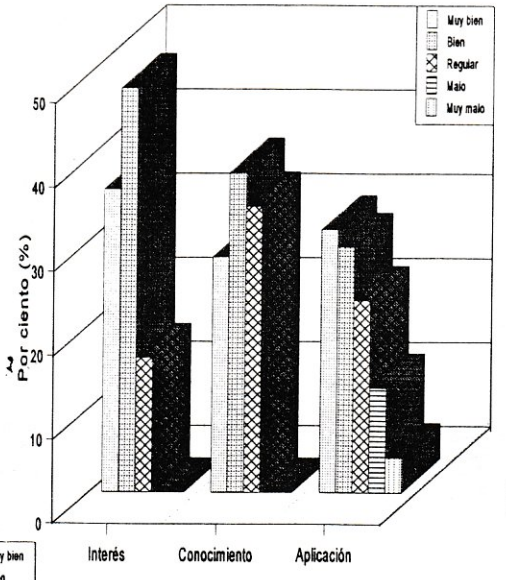
Los órdenes superiores



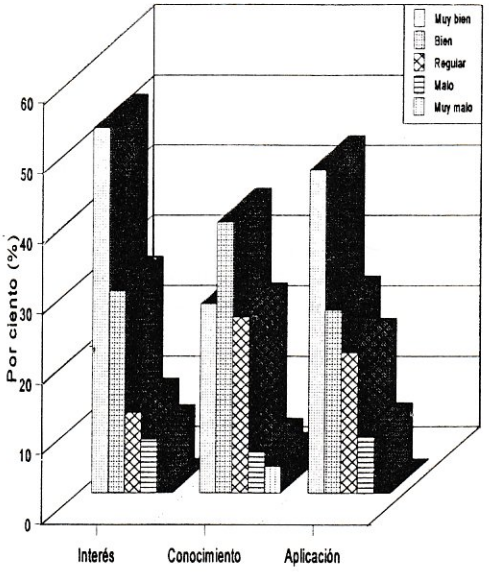
El lado obscuro del TGF-beta



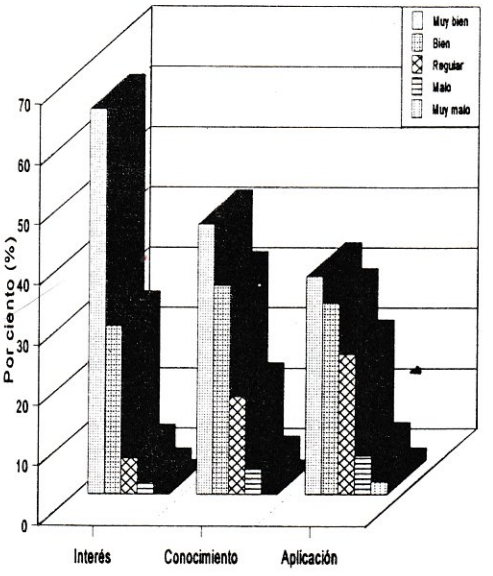
Los receptores para aminoácidos



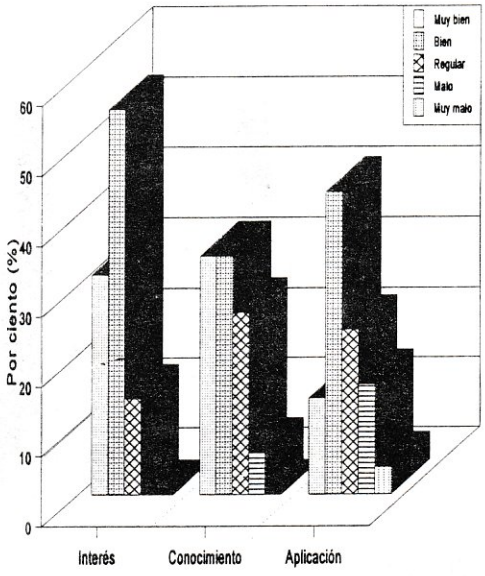
Sistemas antioxidantes



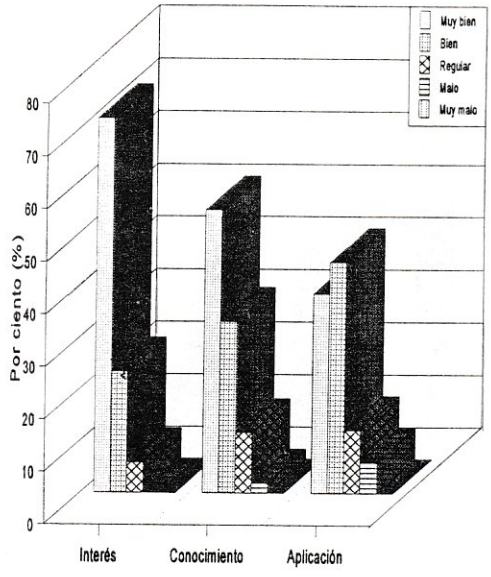
Procesamiento del antígeno



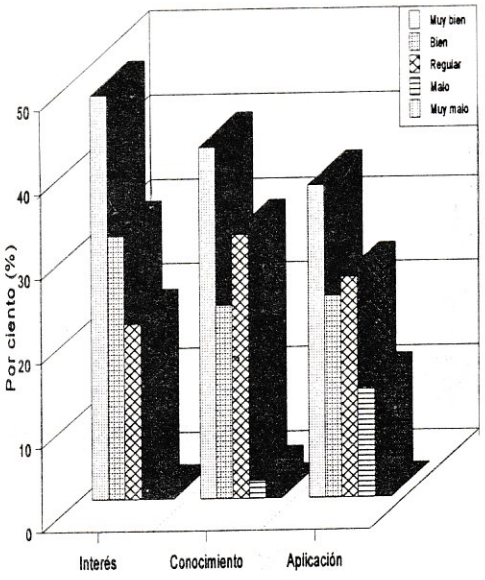
La síntesis de lípidos



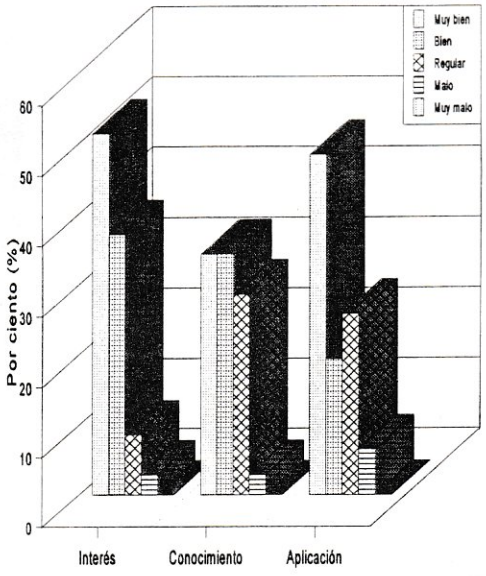
Función de las lectinas



La fotosíntesis



Evaluación del desempeño docente



También estuvo presente la Asociación de Profesores de Bioquímica, quienes realizaron el Congreso de la Asociación de Profesores de Bioquímica, AC.

Finalmente, durante la ceremonia de clausura se conmemoró el XXV Aniversario del Taller de Actualización Bioquímica con la presencia de algunos profesores del Departamento de Bioquímica que aceptaron la invitación. La ceremonia de clausura la realizó la Dra Ana María López Colomé, Jefa del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, quien agradeció la participación entusiasta de los asistentes, así como de las autoridades universitarias, en particular del Dr Alejandro Cravioto, por el apoyo recibido para la realización de este Taller.

El Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM, en su carácter de organizador, administró las cuotas de inscripción y cubrió todos los gastos realizados durante el Taller. En el transcurso de este Taller, los profesores de Oaxaca mencionaron su deseo por ser la sede del próximo Taller. Esperamos contar con su valiosa participación el año entrante.

El Comité Organizador
Sara Morales López
Marco Antonio Juárez Oropeza
Juan Pablo Pardo Vázquez
Federico Martínez Montes

RUMBO AL VII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, AC

Primera Convocatoria

En los acuerdos tomados en la sesión de negocios celebrada durante el VI Congreso de nuestra Asociación se convoca a los Profesores de Bioquímica y Areas afines a participar con trabajos libres en el VII Congreso de nuestra Asociación que se llevará a cabo el 13 de agosto, después del XXVI Taller de Actualización Bioquímica, que organiza el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM.

La sede del Congreso se anunciará más adelante, así como las categorías en las que se aceptarán los trabajos libres presentados por los participantes.

Informes:

Dr Alejandro Zentella Dehesa
Depto Biología Celular, Instituto de Fisiología Celular de la UNAM
AP 70-243 México DF. 045010 México
Tel: (5) 622-56-09; FAX: (5) 622-56-11
email: azentell@ifcsun1.ifisiol.unam.mx

PRIMER AVISO SOBRE EL XXVI TALLER DE ACTUALIZACIÓN BIOQUÍMICA

A todos los profesores de Bioquímica del país:

Se les informa que el próximo **XXVI Taller de Actualización Bioquímica** se realizará del 9 al 13 de agosto del año entrante. Durante este Taller se cubrirán los temas que se muestran en el calendario anexo. Hasta el momento, la sede es la Ciudad de México, aunque existen intenciones serias de que el TAB se realice en Oaxaca o en Cuernavaca. En el transcurso de enero próximo les informaremos de la sede definitiva.

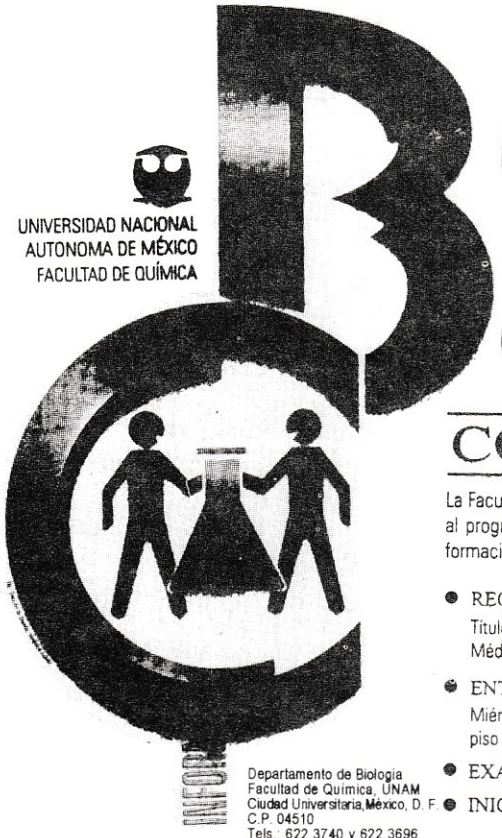
Atentamente
El Comité Organizador

Marco A. Juárez Oropeza (majo@servidor.unam.mx), Tel: 623-21-69
Juan Pablo Pardo Vázquez (pardov@servidor.unam.mx), Tel: 623-25-10
Sara Morales López (saramolo@servidor.unam.mx), Tel: 623-21-68
Federico Martínez Montes (fedem@servidor.unam.mx), Tel: 623-24-08
Depto de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM
Fax: 616-24-19

XXVI TALLER DE ACTUALIZACIÓN BIOQUÍMICA

Semana del 9 al 13 de agosto de 1999

HORA	LUNES 9	MARTES 10	MIÉRCOLES 11	JUEVES 12	VIERNES 13
8:00	Inscripción				
9:00 a 9:15	Inauguración	Los complejos respiratorios mitocondriales. Juan Pablo Pardo Vázquez	Aspectos metabólicos y genéticos del cáncer. Alejandro García Carrancá	Cinética de compartimientos. Héctor Riveros Rosas	Congreso de la AMPB
9:15 a 10:30	Ciclos hormonales en animales. Gabriela Moralí				
RECESO					
10:45 a 12:15	Acción diversa de las hormonas esteroideas. Josué Garza Flores	La cadena respiratoria bacteriana. Edgardo Escamilla	Adhesión celular. Felipe Vadillo	Los fármacos como producto de la investigación bioquímica. Francisco Javier Flores Murrieta	
RECESO					
12:30 a 14:00	Síndrome de Inmuno-deficiencia Adquirida. Enrique Soto	Las bacterias fijadoras de nitrógeno. David Romero Camarena	Los receptores adrenérgicos vasculares en la hipertensión. Rafael Villalobos Molina	Degradación y metabolismo de algunos fármacos. Zurisadai Hernández	
RECESO PARA COMER					
16:00 a 19:00	Taller de Ras-Mol y modelaje de moléculas por computadora. Juan Pablo Pardo, Federico Martínez y Marco Antonio Juárez.	Taller de Ras-Mol y modelaje de moléculas por computadora. Juan Pablo Pardo, Federico Martínez y Marco Antonio Juárez.	Taller de Ras-Mol y modelaje de moléculas por computadora. Juan Pablo Pardo, Federico Martínez y Marco Antonio Juárez.	Taller de Ras-Mol y modelaje de moléculas por computadora. Juan Pablo Pardo, Federico Martínez y Marco Antonio Juárez.	
				Ceremonia de Clausura.	



POSGRADO DE
ESPECIALIZACION EN
Bioquímica Clínica

CONVOCATORIA

La Facultad de Química en colaboración con la Secretaría de Salud, convoca al programa de posgrado de Especialización en Bioquímica Clínica para la formación de recursos humanos de alto nivel en el Laboratorio Clínico.

- REQUISITOS DE INGRESO
  Título de Químico Farmacéutico Biólogo, Químico Bacteriólogo y Parasitólogo, Médico, Biólogo o de Carreras afines.
- ENTREVISTAS
  Miércoles 2 y 9 de diciembre de 1998 a las 16:00 hs. Laboratorio I/D, primer piso edificio "A", Facultad de Química, UNAM.
- EXAMEN: 12 de enero de 1999.
- INICIO DE CURSOS: 1o. de febrero de 1999.

Departamento de Biología
Facultad de Química, UNAM
Ciudad Universitaria, México, D. F.
C.P. 04510
Tels.: 622 3740 y 622 3696
Fax: 622 3740

A LOS LECTORES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

DONATIVO ANUAL 1998

El BEB concluye su décimo séptimo 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 18 de nuestro Boletín.

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

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

Atentamente
El Comité Editorial

¿TE INTERESARÍA SER CORRESPONSAL DEL BEB EN TU LOCALIDAD?

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

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

Atentamente
Sergio Sánchez Esquivel, Coord. de Corresponsales
del Comité Editorial del BEB

REGISTRO DE SUSCRIPTORES DEL BEB
(Diciembre de 1998)

AGUILAR SANTAMARÍA, MARÍA DE LOS ÁNGELES
AGUILAR SANTELISES, LEONOR
ALARCÓN AGUILAR, FRANCISCO JAVIER
ÁLVAREZ BRUNELIERE, MARÍA DOLORES
ÁLVAREZ GONZÁLEZ, RAFAEL
AMARIS CASTELLAR, RAFAEL ARTURO
ANDRADE VELÁZQUEZ, LUZ MARÍA
AQUINO CARBALLO, JORGE
ARAUJO GONZÁLEZ, JESÚS ÁNGEL
ARREDONDO PETER, JOSÉ RAÚL
ARZIAZU MONTIEL, ELISA
BARBOSA CORONA, JOSÉ ELEAZAR
BARRERA SALDAÑA, HUGO ALBERTO
BARTNICKI GARCÍA, SALOMÓN
BAUTISTA REYES, CARLOS
BONILLA GONZÁLEZ, EDMUNDO
BORBOA OSUNA, ALMA LETICIA
BRAMBILA COLOMBRES, EDUARDO MIGUEL
BROCHE VALLE, FÉLIX JESÚS
BUCIO ORTIZ, LETICIA
BUCKLE RAMÍREZ, LUIS FERNANDO
BURGUEÑO CASTAÑOS, ALEJANDRA
CABEZA SALINAS, MARISA
CABARERA GARCÍA, CARLOS
CALDERÓN TINOCO, JESÚS
CAMPOS MUÑIZ, CAROLINA
CARDEMIL URZÚA, EMILIO
CARVAJAL JUÁREZ, MARÍA ELENA
CARRILES VIVANCO, MANUEL
CASAS HERNÁNDEZ, EDUARDO
CASTILLO CADENA, JULIETA
CÉSPEDES MIRANDA, ELA MARÍA
CID GARCÍA, ÁNGEL NEFTALÍ
CONSEJO NACIONAL TÉCNICO DE LA EDUCACIÓN
CÓRDOBA AGUILAR, EDGAR
CORTÉS REYES, JUAN MANUEL
CORVERA PILLADO, VÍCTOR ALBERTO
COVANTES RODRÍGUEZ, DELIA
CRUZ GALLEGOS, ELIA
CRUZ PARADA, ELSA
CRUZ PÉREZ, ARTURO LUIS
CRUZ VARGAS, ANGELINA
CUENCA AGUILAR, BETARIZ
CHARLES JIMÉNEZ, REFUGIO GUADALUPE
CHÁVEZ COSÍO, EDMUNDO
CHÁVEZ COSÍO, RICARDO
CHÁVEZ LICÓN, DANIEL
DÁVILA ESQUIVEL, MA TERESA
DE DIOS ALAMILLA, JOSEFA
DE LA CRUZ HERNÁNDEZ, JOSÉ DEL CARMEN
DE LA GARZA AMAYO, GUADALUPE MIREYA
DE LA GARZA TOLEDO, HELIODORO OCTAVIO
DE LA TORRE GARCÍA QUINTANA, CONSUELO
DELGADILLO, HÉCTOR J.
DENT, MYRNA
DEVARS RAMOS, SILVIA
DÍAZ CELAYA, ÁNGELES
DÍAZ GONZÁLEZ, PATRICIA EMMA
DÍAZ HERRERA, FERNANDO
DÍAZ VELARDE, CECILIA ISABEL
DOMÍNGUEZ GÁNDARA, HORTENSIA
DOMÍNGUEZ MARÍN, MANUEL JESÚS
DUFOUR CANDELARIA, LETICIA
DURANTE SERAFINI, CECILIA ELSA
ELORZA MENDOZA, ILIANA GENOVEVA
ESCALANTE PLIEGO, ROSALINDA
ESPARZA VALENCIA, HÉCTOR MANUEL
ESPEJEL RAMÍREZ, LUIS REY
ESPINOSA VILLEGAS, SARA
FALCÓN FRANCO, MARCO ANTONIO
FARFÁN, BLANCA CLAUDIA
FERNÁNDEZ RIVERA, RÍO LEONOR
FLORES BRITO, HILDA
FLORES CARREÓN, ARTURO
FLORES HERNÁNDEZ, MA DEL CONSUELO
FLORES OLVERA, AUSTREBERTO
FLORES ROSALES, GILDA
FRAGA, CÉSAR G
FRANCO Y BOURLAND, REBECCA ELIZABETH
FRANK FREUND, SILVESTRE
GALEOTTI, TOMMASO
GALLEGOS GÓMEZ, GRACIELA
GALVÁN GUTIÉRREZ, DANIEL
GALVEZ ORDOÑO, OFELIA IRINA
GARCÍA ANDRADE, MARCELA MARÍA ELENA
GARCÍA BOURNISSEN, FACUNDO
GARCÍA IZAGUIRRE, LUIS HÉCTOR
GARCÍA MÉNDEZ, JORGE IGNACIO
GARCÍA PIÑEIRO, JOSÉ CARLOS
GARCÍA SÁNCHEZ, ADELA
GARCILASO PÉREZ, JESÚS RUBÉN
GARZA GONZÁLEZ, MARÍA TERESA
GAVILANES RUIZ, MARINA
GIJÓN GRANADOS, ENRIQUE
GILES RÍOS, HÉCTOR HUGO
GODÍNEZ NERI, OCTAVIO
GÓMEZ CASTILLO, ROSA MARÍA
GÓMEZ LOJERO, CARLOS
GÓMEZ OLIVARES, JOSÉ LUIS
GONZÁLEZ DE MC SWINEY, CRISTINA
GONZÁLEZ GONZÁLEZ, OLGA LIDIA
GONZÁLEZ MACÍAS, ANTONIO
GONZÁLEZ MANJARREZ, ALICIA
GONZÁLEZ NAVARRO, MARÍA CRISTINA
GONZÁLEZ SOTO, ELVIRA
GONZÁLEZ TORRES, MARÍA CRISTINA
GONZÁLEZ VARGAS, ELENA
GONZÁLEZ VEGA, LILIA ARACELI
GONZÁLEZ VITE, JUAN
GUZMÁN REALI, RAÚL
HERMOSILLO SALAS, MARICELA
HERNÁNDEZ CHÁVEZ, JOSÉ LUIS
HERNÁNDEZ CHÁVEZ, ROBERTO
HERNÁNDEZ TORRES, ROSA PATRICIA
HOL SOTO NORJA, DIRK
HUBERMAN WAJSMAN, ALBERTO
HURTADO LECAROS, ADRIANA
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN DE ZONAS DESÉRTICAS
ÍÑIGUEZ GOLLAZ, MA CONCEPCIÓN
JUÁREZ ORTIZ, CENOBIA
KONIGSBERG FAINSTEIN, MINA
LARRALDE RANGEL, CARLOS
LÁZARO SANTIAGO, GABRIELA
LEÓN CÁZARES, JESÚS MANUEL
LIRA RUÁN, KATERINA
LICON TRILLO, ÁNGEL
LIRAS MARTÍN, ANTONIO
LIZÁRRAGA BAZÁN, ANA DOLORES

LOBO MOLINA, ROBERTO
LÓPEZ BARTOLO, CARLOS AUGUSTO
LÓPEZ CASILLAS, FERNANDO
LÓPEZ CHIÑAS, TOMÁS
LÓPEZ CORELLA, EDUARDO
LÓPEZ RAMÍREZ, IRMA
LÓPEZ ROMERO, EVERARDO
LLESUY FERNÁNDEZ, SUSANA FRANCISCA
LLORENS DE RITHNER, ELSA BEATRIZ
MALDONADO BENÍTEZ, GERARDO
MANJÁRREZ GONZÁLEZ, MA TERESA
MARTÍNEZ GARCÍA, LUZ GISELA
MARTÍNEZ GARCÍA, MARIO
MARTÍNEZ LAGUNA, YGNACIO
MARTÍNEZ ORTEGA, MARÍA DE LOURDES
MARTÍNEZ PALOMO, ADOLFO
MARTÍNEZ VALDEZ, HÉCTOR
MAS OLIVA, JAIME
MEDINA UN, JUANA B
MENDOZA VILLARREAL, ROSALINDA
MERCHANT LARIOS, HORACIO
MEZA RUIZ, GRACIELA
MICHÁN AGUIRRE, LAYLA
MIRAMONTES CARRILLO, JUAN MANUEL
MIRANDA ZAMORA, RODRIGO
MITRE LÓPEZ, FLOR DE MARÍA
MONTIEL MONTOYA, MA DE LOS ANGELES
MONTANTE SANDOVAL, MARGARITA
MORALES LÓPEZ, SARA
MORÁN WALCH, ADRIANA
MORENO COLÍN, ROBERTO
MORENO NEVARES, GABRIELA
MORETTON, JUAN AGUSTÍN
MOSQUEDA AGUILAR, AARÓN JESÚS
NAVA OJEDA, ÁNGEL
NÚÑEZ ROSANO, ROSARIO
OCAMPO ROJO, ERNESTINA
OJEDA TREJO, ROSA MARÍA
OLGUÍN PALACIOS, EUGENIA JUDITH
OLIVA GONZÁLEZ, EDGAR AXEL
ORNELAS HERNÁNDEZ, LUZ DEL CARMEN
PÁJARO HERNÁNDEZ, RAMÓN
PADILLA ACERO, JAIME ENRIQUE
PALAFOX ECHEVERRÍA, SILVIA ELENA
PAPUCCIO APARICIO, SILVIA BEATRIZ
PARDO RUIZ, MA AUGUSTA PATRICIA
PAREDES LÓPEZ, OCTAVIO
PEÑA RANGEL, MA TERESA
PEÑALOZA SERVIEN, MA EUGENIA
PÉREZ, JORGE
PÉREZ DE LA MORA, MIGUEL ÁNGEL
PÉREZ MAGAÑA, BLANCA ELISA
PÉREZ MONTFORT, RUY ENRIQUE
PIEDRAS HUERTA, MIGUEL ÁNGEL
PIÑA GARZA, ENRIQUE
PORTALES AGUIRRE, CLARA E
PORTILLA BURGOS, JAVIER
PUGA SÁNCHEZ, MA GUDALUPE
QUINTERO DE ARROYAVE FLORES, GRACIELA A
RAMÍREZ ANDRADE, BERTHA MARGARITA
RAMÍREZ GARCÍA, RAFAELA
RAMÍREZ MARES, JOSÉ MARCO VINICIO
RAMOS BLAS, GUSTAVO JONY
RANGEL SERRANO, MA DE LOS ANGELES
RANGEL VALE, LUCÍA
RE ARAUJO, ANA DENISSE
RENDÓN RAMÍREZ, ADELA L
REYES CALDERÓN, IRMA LETICIA
REYES GAMA, RANULFO
REYES LEAL, GILBERTO
REYES MÉNDEZ, JORGE JOEL
REYES ROMERO, MIGUEL ARTURO
REYNOSO DUCOING, OLIVIA ALICIA
RICO PÉREZ, JORGE LUIS
ROBLERO PÉREZ, MARIO ARMÍN
RODRÍGUEZ, LUIS MANUEL
RODRÍGUEZ ARZAVE, JUAN ANTONIO
RODRÍGUEZ BARBOSA, RAMÓN
RODRÍGUEZ HUERTA, JUAN CARLOS
RODRÍGUEZ LOAEZA, JOSÉ LUIS
ROJAS LARA, MA LUISA
ROMERO ÍÑIGUEZ, JAVIER
ROMO CALVILLO, MARÍA ELENA
ROQUE HERNÁNDEZ, MARÍA DE LOURDES
ROSAS, MARGARITA
ROSAS FLORES, MARGARITA MARCELA
ROSALES ENCINA, JOSÉ LUIS
ROSAS GUTIÉRREZ, BEATRIZ
RUBIO DE CELIS TITO, EMILIO
RUBIO HERNÁNDEZ, DAVID
RUBIO RUBIO, CONSUELO
RUBIO RUELAS, BALDEMAR
RUIZ CARMONA, ANABEL
SAAVEDRA MOLINA, ALFREDO
SALAZAR EXAIRE, JOSÉ DANIEL
SALVEDA SACANELLES, ROCÍO
SALDAÑA BALMORI, YOLANDA
SALINAS FREGOSO, MARGARITA
SÁMANO NÁJERA, BENITO
SÁNCHEZ ESQUIVEL, SERGIO
SÁNCHEZ MILLÁN, JOSÉ LUIS
SÁNCHEZ OJEDA, ANTONIO
SÁNCHEZ RAMÍREZ, BLANCA ESTELA
SANDOVAL ARELLANO, MARGARITO
SANDOVAL ESPADAS, ERMILO FRANCISCO
SEGOVIA ESCALANTE, NERY
SERRATOS PRADO, HÉCTOR GABRIEL
SILVA SÁNCHEZ, BERTHA
SILVA VILLARREAL, EMILSE CONCEPCIÓN
SOLÍS LUNA, MARÍA DE LA LUZ
SOUZA ARROYO, VERÓNICA
SUÁREZ HERRERA, MARTHA ALICIA
TALAMAS ROHANA, PATRICIA
THOMPSON BONILLA, MARÍA DEL ROCÍO
TOLEDO GARCÍA, MARICELA
TORRES OCHOA, SERGIO
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
UNIVERISDAD JUÁREZ DEL ESTADO DE DURANGO
URZÚA MACÍAS, RAFAEL
VALADEZ RODRÍGUEZ, MARÍA DEL REFUGIO
VALDEZ LÓPEZ, MANUEL
VALLE BAHENA, OLIVIA M
VARGAS, ERNESTO
VARGAS ALBORES, FRANCISCO
VASSILEV, GEORGES
VÁZQUEZ LOZA, FELIPE
VÁZQUEZ REYES, SOLEDAD
VÁZQUEZ ROSILLO, NICOLÁS
VALDERRAIN FIGUEROA, ALBERTO EMILIO
VEJAR RIVERA, EVA IRMA
VÉLEZ PLIEGO, MARCELA
VICEDO TOMEY, AGUSTÍN GUILLERMO
VIDALES PAZ, JUANA EDELIA
VILLARREAL MOGUEL, ELENA IRMA
VITELA MORA, FELIPE
VOLTOLINA LOBINA, DOMENICO
ZAVALA MADERO, JUAN FRANCISCO
ZENTELLA DEHESA, ALEJANDRO
ZINKER RUZAL, SAMUEL
ZUCKERMANN STALOFF, JUAN CLAUDIO

ÍNDICE ANUAL DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 1998

AUTORES DE EDITORIALES

Calderón Salinas J V. La ética de la investigación científica en humanos. *17*(3): 101-104.

Comité Editorial del BEB, El. El BEB y el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM. *17*(1): 1-2.

Larralde C. La nueva universidad. *17*(4): 147.

León Cázares J M y Flores Rodríguez M T E. ¿Anticiencia? *17*(2): 47-48.

AUTORES DE ARTÍCULOS

Alcántara Hernández R. AP-1, un factor de transcripción clásico. *17*(3): 123-129.

Barboza Corona J E e Ibarra J E. Proteínas insecticidas de *bacillus thuringiensis*. *17*(1): 3-10.

Céspedes Miranda E M, Arencibia Dávila R E, Broche Valle F y García Piñeiro J C. El estrés oxidativo en la patogenia de la aterosclerosis. *17*(1): 18-21.

Chánez Cárdenas M E. El uso de 1-anilino-8 naftalenosulfonato (ANS), para la identificación de intermediarios en la ruta de plegamiento de proteínas globulares. *17*(1): 11-17.

Flores-Herrera O y Martínez Montes F. Aspectos estructurales y funcionales de las 5'-nucleotidasas. *17*(2): 49-58.

Gómez González E O y Zentella Dehesa A. Apoptosis y muerte celular programada. *17*(3): 105-114.

Huerta-Saquero A y Cols. Los ciclos fútiles y la sobreproducción de metabolitos bajo la perspectiva del control metabólico. *17*(4): 157-165.

León Cázares J M y Flores Rodríguez M T E. Las teorías sobre las causas del envejecimiento. *17*(2): 59-68.

López Marure R, Sánchez Sánchez L, Chávez González M A y Weiss Steider B. Participación de las proteínas supresoras de tumores (RB y p53) y los complejos CDK-ciclina en el control del ciclo celular. *17*(2): 69-78.

Martínez F y Cols. El transporte de colesterol en los tejidos esteroidogénicos. *17*(4): 148-156.

Oliart R, Angulo J O y Torres-Márquez M E. Insulina: su gen y su mecanismo de acción molecular. *17*(2): 79-85.

Reyes Méndez J J. Aproximación a los fractales y la teoría del caos. La fisiología humana y la evolución celular. *17*(1): 23-30.

Rodríguez R y Cols. Los carotenoides en la salud. *17*(3): 115-121.

Vivero J M y Calderón Salinas J V. La resistencia de las plantas a la infección viral. *17*(4): 172-177.

Zamudio Maya M. Fisiología y regulación de la expresión de genes durante la fase estacionaria de crecimiento en bacterias GRAM negativas. *17*(4): 166-171.

AUTORES DE OTRAS COMUNICACIONES

Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A C. VI Congreso. *17*(1): 35-36.

Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, AC. VI Congreso. *17*(2): 88.

Discurso del Dr Adolfo García Sáinz al recibir el Premio Nacional de Ciencias y Artes 1997. *17*(1): 33-34.

Falleció el Dr Joaquín Cravioto Muñoz. *17*(2): 87.

Informe del XXV Taller de Actualización Bioquímica. *17*(4): 181-184.

León Cázares J M. Sobre los puntos de las abreviaturas. *17*(3): 130-131.

Mas Oliva J. Estructura y función del receptor a proteínas modificadas, receptor "basurero" o "scavenger". *17*(1): 31-32.

Millán Chávez R. Inquietud sobre la puntuación en las publicaciones científicas del BEB. *17*(3): 130.

Salceda Sacanalles R. Herminia Pasantes Morales Ordóñez: investigadora emérita del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México. *17*(2): 86.

Saldaña Balmori Y. El Dr Enrique Piña Garza es designado Profesor Emérito de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. *17*(4): 178-179.

Zentella Dehesa A. Compatibilidad en el control del ciclo celular entre núcleo y citoplasma: una limitación en la clonación de mamíferos. *17*(3): 132-134.

Zentella Dehesa A. Dr. Enrique Piña Garza, Profesor Emérito de la Facultad de Medicina y fundador del BEB y de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica. *17*(4): 180.

TÍTULOS DE EDITORIALES

¿Anticiencia? León Cázares J M y Flores Rodríguez M T E. *17*(2): 47-48.

El BEB y el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM. El Comité Editorial del BEB. *17*(1): 1-2.

La ética de la investigación científica en humanos. Calderón Salinas J V. *17*(3): 101-104.

La nueva universidad. Larralde C. *17*(4): 147.

TÍTULOS DE ARTÍCULOS

AP-1, un factor de transcripción clásico. Alcántara Hernández R. *17*(3): 123-129.

Apoptosis y muerte celular programada. Gómez González E O y Zentella Dehesa A. *17*(3): 105-114.

Aproximación a los fractales y la teoría del caos. La fisiología humana y la evolución celular. Reyes Méndez J J. *17*(1): 23-30.

Aspectos estructurales y funcionales de las 5'-nucleotidasas. Flores-Herrera O y Martínez Montes F. *17*(2): 49-58.

El estrés oxidativo en la patogenia de la aterosclerosis. Céspedes Miranda E M, Arencibia Dávila R E, Broche Valle F y García Piñeiro J C. *17*(1): 18-21.

El transporte de colesterol en los tejidos esteroidogénicos. Martínez F y Cols. *17*(4): 148-156.

El uso de 1-anilino-8 naftalenosulfonato (ANS), para la identificación de intermediarios en la ruta de plegamiento de proteínas globulares. Chánez Cárdenas M E. *17*(1): 11-17.

Fisiología y regulación de la expresión de genes durante la fase estacionaria de crecimiento en bacterias GRAM negativas. Zamudio Maya M. *17*(4): 166-171.

Insulina: su gen y su mecanismo de acción molecular. Oliart R, Angulo J O y Torres-Márquez M E. *17*(2): 79-85.

La resistencia de las plantas a la infección viral. Vivero J M y Calderón Salinas J V. *17*(4): 172-177.

Las teorías sobre las causas del envejecimiento. León Cázares J M y Flores Rodríguez M T E. *17*(2): 59-68.

Los carotenoides en la salud. Rodríguez R y Cols. *17*(3): 115-121.

Los ciclos fútiles y la sobreproducción de metabolitos bajo la perspectiva del control metabólico. Huerta-Saquero A y Cols. *17*(4): 157-165.

Participación de las proteínas supresoras de tumores (RB y p53) y los complejos CDK-ciclina en el control del ciclo celular. López Marure R, Sánchez Sánchez L, Chávez González M A y Weiss Steider B. *17*(2): 69-78.

Proteínas insecticidas de *bacillus thuringiensis*. Barboza Corona J E e Ibarra J E. *17*(1): 3-10.

TÍTULOS DE OTRAS COMUNICACIONES

Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A C. VI Congreso. *17*(1): 35-36.

Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, AC. VI Congreso. *17*(2): 88.

Compatibilidad en el control del ciclo celular entre núcleo y citoplasma: una limitación en la clonación de mamíferos. Zentella Dehesa A. *17*(3): 132-134.

Discurso del Dr Adolfo García Sáinz al recibir el Premio Nacional de Ciencias y Artes 1997. *17*(1): 33-34.

Dr. Enrique Piña Garza, Profesor Emérito de la Facultad de Medicina y fundador del BEB y de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica. Zentella Dehesa A. *17*(4): 180.

El Dr Enrique Piña Garza es designado Profesor Emérito de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. Saldaña Balmori Y. *17*(4): 178-179.

Estructura y función del receptor a proteínas modificadas, receptor "basurero" o "scavenger". Mas Oliva J. *17*(1): 31-32.

Falleció el Dr Joaquín Cravioto Muñoz. *17*(2): 87.

Herminia Pasantes Morales Ordóñez: investigadora emérita del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México. Salceda Sacanalles R. *17*(2): 86.

Informe del XXV Taller de Actualización Bioquímica. *17*(4): 181-184.

Inquietud sobre la puntuación en las publicaciones científicas del BEB. Millán Chávez R. *17*(3): 130.

Sobre los puntos de las abreviaturas. León Cázares J M. *17*(3): 130-131.

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

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

I. ARTÍCULOS DE REVISIÓN

1) El artículo deberá enviarse en un disco para computadora, escrito en los procesadores de textos **"Winword"** o **"Wordperfect"**, con una extensión máxima de 15 cuartillas a doble espacio (27 renglones por cuartilla y 70 caracteres por renglón). Éste deberá ir acompañado de tres impresiones del artículo.

2) Se deberá incluir un resumen en idioma español y uno en inglés, de más o menos diez renglones, que irán seguidos por conjuntos de tres a seis palabras clave.

3) Se aceptará un máximo de quince referencias, tanto específicas como de lecturas recomendadas, numeradas entre paréntesis en el texto de forma progresiva conforme vayan apareciendo. Cada una debe contener: Nombres de los autores, año de publicación entre paréntesis, título del artículo, nombre oficial de la revista abreviado como aparece en el Current Contents, número del volumen en cursivas y antecedido por dos puntos el número de la primera y últimas páginas, de acuerdo con lo que se muestra en el siguiente ejemplo:

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

   Los artículos en libros deberán citarse de la siguiente forma:

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

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

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

4) Se aceptarán como máximo seis ilustraciones, figuras más tablas, las cuales deberán estar dibujadas sobre papel albanene con tinta china o bien impresiones láser o presentarse como fotografías en blanco y negro sobre papel brillante, cuya localización deberá estar señalada en el texto. La limitación en el número de figuras, de tablas y de referencias, obliga a los autores a que se seleccionen aquellas que sean realmente importantes e informativas. Las figuras se deberán numerar con arábigos y las tablas con romanos. Las leyendas y los pies de figuras se deberán adicionar en una hoja aparte. Se deberá considerar que las figuras y las tablas se reducirán de tamaño, aproximadamente a la mitad o a un cuarto de las dimensiones de una hoja carta; las letras y números más pequeños no deben ser menores a los dos milímetros. Las tablas se deberán presentar conforme alguna de las publicadas en los números de 1995.

5) Se deberá evitar hasta donde sea posible los pies de páginas. Las abreviaturas poco comunes que se utilicen en el texto deberán enlistarse en la primera página.

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

II. OTRAS COMUNICACIONES

1) El tema de las otras comunicaciones puede ser muy variado; desde resúmenes de artículos interesantes, relevantes o significativos, información de tipo general, avisos de reuniones académicas y cursos, bolsa de trabajo, etcétera.

2) El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de una manera explícita:

3) El trabajo deberá enviarse igual que como se 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.

BEB 98 Vol 17 Núm 4 Diciembre de 1998

CONTENIDO

EDITORIAL

LA NUEVA UNIVERSIDAD
Carlos Larralde 147

ARTÍCULOS

EL TRANSPORTE DE COLESTEROL EN LOS TEJIDOS ESTEROIDOGÉNICOS
Federico Martínez y Cols 148

LOS CICLOS FÚTILES Y LA SOBREPRODUCCIÓN DE METABOLITOS BAJO LA PERSPECTIVA DEL CONTROL METABÓLICO
Alejandro Huerta-Saquero y Cols 157

FISIOLOGÍA Y REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE GENES DURANTE LA FASE ESTACIONARIA DE CRECIMIENTO EN BACTERIAS GRAM NEGATIVAS
Marcela Zamudio Maya 166

LA RESISTENCIA DE LAS PLANTAS A LA INFECCIÓN VIRAL
Juan Manuel Vivero y
José Víctor Calderón Salinas 172

OTRAS COMUNICACIONES

EL DR ENRIQUE PIÑA GARZA ES DESIGNADO PROFESOR EMÉRITO DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Yolanda Saldaña Balmori 178

DR ENRIQUE PIÑA GARZA PROFESOR EMÉRITO DE LA FACULTAD DE MEDICINA Y FUNDADOR DEL BEB Y DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA
Alejandro Zentella Dehesa 180

INFORME DEL XXV TALLER DE ACTUALIZACIÓN BIOQUÍMICA 181

CONVOCATORIAS

RUMBO AL VII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, AC
Primera Convocatoria 185

RUMBO AL XXVI TALLER DE ACTUALIZACIÓN BIOQUÍMICA
Primer Aviso 185

POSGRADO DE ESPECIALIZACIÓN EN BIOQUÍMICA CLÍNICA 187

A LOS LECTORES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA
Donativo Anual 1998 187

¿TE INTERESARÍA SER CORRESPONSAL DEL BEB EN TU LOCALIDAD? 187

REGISTRO DE SUSCRIPTORES DEL BEB (Diciembre de 1998) 188

ÍNDICE ANUAL DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 190

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 192