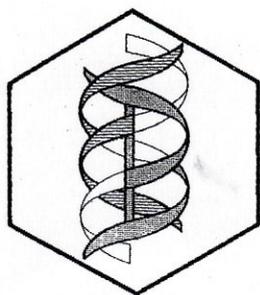


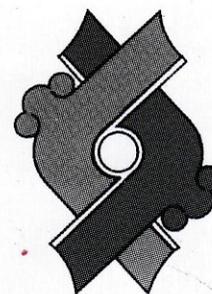
# BEB 2000

---

BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA



Órgano de información de la  
**ASOCIACIÓN MEXICANA DE  
PROFESORES DE BIOQUÍMICA, AC**



**SOCIEDAD MEXICANA DE  
BIOQUÍMICA, AC**

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

# COMITÉ EDITORIAL

## EDITORES FUNDADORES

### ENRIQUE PIÑA GARZA

Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

### GUILLERMO CARVAJAL SANDOVAL

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias  
e Instituto Politécnico Nacional

### JESÚS MANUEL LEÓN CÁZARES

Facultad de Ciencias Naturales  
Universidad Autónoma de Querétaro

### SERGIO SÁNCHEZ ESQUIVEL

Instituto de Investigaciones Biomédicas  
Universidad Nacional Autónoma de México

## EDITORES

### SOCORRO CONCEPCIÓN DURÁN VARGAS

Instituto de Investigaciones Biomédicas  
Universidad Nacional Autónoma de México

### MARCO ANTONIO JUÁREZ OROPEZA

Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

### FEDERICO MARTÍNEZ MONTES

Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

### FERNANDO MONTIEL AGUIRRE

Facultad de Química  
Universidad Nacional Autónoma de México

### RAFAEL MORENO SÁNCHEZ

Instituto Nacional de Cardiología "Dr Ignacio Chávez"

### JORGE JOEL REYES MÉNDEZ

División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Universidad Autónoma Metropolitana

### EMILIO ROJAS DEL CASTILLO

Instituto de Investigaciones Biomédicas  
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

### YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

## EDITORES ASOCIADOS

### EDMUNDO CHÁVEZ COSÍO

Instituto Nacional de Cardiología "Dr Ignacio Chávez"

### MARÍA TERESA ELIZABETH FLORES RODRÍGUEZ

Facultad de Ciencias Naturales  
Universidad Autónoma de Querétaro

### MARINA GAVILANES RUIZ

Facultad de Química  
Universidad Nacional Autónoma de México

### ELIZABETH LANGLEY M<sup>c</sup>CARRON

Instituto de Investigaciones Biomédicas  
Universidad Nacional Autónoma de México

### JAIME MAS OLIVA

Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México

## ASISTENTE EDITORIAL

### ELISA SALLES MORA

Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

## CORRESPONSALES

### MARÍA DE LOS ANGELES BOFFILL CÁRDENAS

Facultad de Ciencias Médicas  
Instituto Superior de Ciencias Médicas de Villa Clara, Cuba

### ALMA LETICIA BORBOA OSUNA

Facultad de Medicina  
Universidad Autónoma de Sinaloa

### ARMANDO FRANCISCO VARGAS ALBORES

Biocnología Marina  
Centro de Investigación en Alimentos y Desarrollo de Sonora

**KARLA CARVAJAL AGUILERA**  
Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

**RAUL MIGUEL COVIAN**  
Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

**SILVIA DEVARAS RAMOS**  
Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

**JOSE EDGARDO ESCAMILLA MARVAN**  
Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México

**DANIEL ALEJANDRO FERNÁNDEZ**  
Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

**OSCAR FLORES HERRERA**  
Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

**CECILIA GARCÍA PÉREZ**  
Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

**CARLOS GÓMEZ LOJERO**  
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados  
Instituto Politécnico Nacional

**LUIS GONZÁLEZ DE LA VARA**  
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados  
Instituto Politécnico Nacional

**DIEGO GONZÁLEZ HALPHEN**  
Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México

**RICARDO JASSO CHÁVEZ**  
Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

**ROLANDO HERNÁNDEZ MUÑOZ**  
Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México

**IMELDA LÓPEZ VILLASEÑOR**  
Instituto de Investigaciones Biomédicas  
Universidad Nacional Autónoma de México

**HERMINIA LOZA TAVERA**  
Facultad de Química  
Universidad Nacional Autónoma de México

**BLAS LOTINA HENNSSEN**  
Facultad de Química  
Universidad Nacional Autónoma de México

**GUADALUPE MALDONADO MERCADO**  
Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

**JOSE LUIS MOLINARI SORIANO**  
Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México

**FERMÍN PACHECO MOISÉS**  
Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

**JUAN LUIS RENDÓN GÓMEZ**  
Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

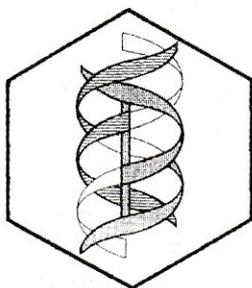
**HORACIO REYES VIVAS**  
Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México

**SARA RODRÍGUEZ ENRÍQUEZ**  
Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

**LUIS HUMBERTO SILVEIRA TORRE**  
Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

**MARÍA EUGENIA TORRES MARQUEZ**  
Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

**SALVADOR URIBE CARVAJAL**  
Instituto de Fisiología Celular  
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** (Índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias). Impresa en los talleres Editorial Uno, SA de CV, 1er Retorno de Correggio No 12, México 03720 DF; tiraje 1,300 ejemplares. Distribuidor: Servicio Postal Mexicano, Reg No PP-DF-026 1098; UNAM-Depto de Bioquímica y Facultad de Medicina.

# EDITORIAL

## CAMBIO Y CONTINUIDAD

A principios de este año el Dr Sergio Sánchez Esquivel decidió dejar de ser miembro del Consejo Directivo de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, AC (AMPB, A C) y del Comité Editorial del Boletín de Educación Bioquímica (BEB), debido a sus múltiples compromisos en investigación, docencia y la administración de la actividad científica a su cargo. Es importante recordar que el Dr Sánchez fue uno de los fundadores de la AMPB, A C y que fue miembro de su Consejo Directivo desde su creación como consta en nuestra Acta Constitutiva. La salida del Dr Sánchez es una pérdida importante para el BEB, y además, tiene un significado especial ya que ahora, tanto en el Consejo Directivo como en el Comité Editorial, sólo queda uno de los fundadores de la AMPB, A C, la Dra Yolanda Saldaña Balmori. Sin embargo, es importante resaltar que una de las tareas del Dr Sánchez y de los ocho miembros del Consejo Directivo, que por razones de trabajo nos han dejado a lo largo de los años, ha sido el buscar la forma en que con el cambio de individuos no se pierda la continuidad en la filosofía que alienta a nuestra revista. Esto ha permitido que las tareas y responsabilidades que se requieren para darle continuidad a nuestra revista y a nuestra Asociación en su mayoría hayan sido transferidas eficazmente a nuevos miembros y colaboradores. Aprovechamos este espacio para reconocer la labor del Dr Sánchez, que al igual que los demás miembros fundadores, contribuyó para darle continuidad a este esfuerzo. Baste mencionar que habiendo manifestado desde hace más de un año su deseo de abandonar este cargo, esperó a que la

participación activa de nuevos miembros asegurara que su salida no resultaría en detrimento ni del BEB ni de la Asociación.

La salida de los miembros fundadores de los cuerpos directivos de nuestra Asociación debe verse como algo natural, como ocurre en la vida de cualquier actividad con una vida de más de 18 años como es el caso del BEB. Sin embargo, el recambio de los individuos fundadores de cualquier institución representa un reto para la continuidad de los principios, metas y objetivos institucionales. Si bien nuestros estatutos especifican con detalle las tareas y responsabilidades que tenemos, la filosofía que justificó la creación del BEB y años más tarde de la AMPB, A C que consiste en brindar apoyo a los profesores de bioquímica y áreas afines ha encontrado eco en la comunidad bioquímica de hoy.

Ha sido difícil para los que constituimos el nuevo grupo de colaboradores del BEB y de la AMPB, A C apegarnos a las motivaciones y a la filosofía de nuestros fundadores, pero gracias a la presencia de los que han permanecido del grupo original podemos decir que los resultados son alentadores.

Por una parte, la AMPB, A C ha logrado mantener la continuidad de sus congresos y sostener una pequeña pero activa membresía. También hemos tenido un número creciente de ponencias de profesionales de la educación bioquímica que sin pertenecer a nuestra Asociación han encontrado en nuestras reuniones

un espacio para la presentación y discusión de su trabajo docente.

Por otra parte, el BEB ha cobrado una gran visibilidad que se refleja en la reciente invitación a participar en la página electrónica de la Sociedad Mexicana de Bioquímica, A C. También es alentador el aumento en diferentes rubros de la vida del BEB como son: en el número de suscriptores, en el aumento en la cantidad de trabajos por número, en el número de trabajos sometidos al BEB, en el número de revisores externos y en la diversidad de las áreas científicas que se cubren. Es importante mencionar que estamos tratando de establecer una nueva tradición al publicar las memorias de los congresos de la Sociedad Mexicana de

Biología del Desarrollo y de distintas ramas de la Sociedad Mexicana de Bioquímica que aparecen como números especiales.

En nuestra opinión, todo esto sugiere que, si bien puede haber divergencias en la forma de alcanzar los objetivos fijados, la filosofía que hace más de 18 años motivó la creación del BEB, y posteriormente, de la AMPB ha sido asimilada y reconocida como propia por una nueva generación de miembros y colaboradores, asegurando de esta manera la continuidad de este esfuerzo educativo.

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

# LA FOTOSÍNTESIS, LAS REACCIONES LUMINOSAS

Juan Carlos Raya Pérez. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N. Unidad de Biotecnología e Ingeniería Genética de Plantas, Departamento de Biotecnología y Bioquímica. Irapuato Guanajuato México.  
Correo electrónico: jraya@irapuato.ira.cinvestav.mx

## RESUMEN

La fotosíntesis aprovecha una fuente de energía prácticamente inagotable: la luz solar, que utiliza para generar compuestos hidrocarbonados, primariamente, y de este modo sustentar casi toda la vida que hay sobre la tierra. Tradicionalmente se le ha dividido en dos etapas: la luminosa o aquella en que se precisa de la entrada de luz, y la oscura, que puede ocurrir aun cuando no haya luz, pero que hace uso de la energía almacenada previamente en las reacciones luminosas para llevar a cabo la reducción del dióxido de carbono a través del ciclo de Calvin. Aquí nos ocuparemos de la parte en que se requiere de la energía luminosa, de cómo es captada por las plantas y cómo se aprovecha para el transporte de protones, la síntesis de ATP y la generación de poder reductor.

**PALABRAS CLAVE:** reacciones luminosas, transporte de electrones, ATP, NADPH, PSI, PSII.

## ABSTRACT

Plants harvest sun light is the way to make carbohydrates and support the life on the earth. Photosynthesis process have been divided in two phases: dark and luminous; in the dark reactions is not necessary the lighth, although use the energy stored during the luminous reactions to reduce CO<sub>2</sub> through the Calvin's cycle. In this review we will describe the luminous reactions, harvesting of lighth, electron transport, ATP synthesis and power reduction generation.

**KEY WORDS:** light reaction, electron transport, ATP, NADPH, PSI, PSII.

## ALGO DE HISTORIA

La fotosíntesis es responsable de la atmósfera oxigénica, satisface nuestras necesidades de alimentación y nos provee de materias primas como madera y fibras naturales; de hecho prácticamente toda la energía que consumimos proviene de ella, incluido el petróleo, energía luminosa que fue cap-

turada y almacenada por las plantas hace millones de años.

La esencia de la fotosíntesis es la conversión de energía que llega a la tierra en forma de radiaciones electromagnéticas (luz de sol) en energía química biológicamente utilizable. Esta energía se emplea para reorganizar los átomos del dióxido de carbono y el agua para formar carbohidratos y liberar oxígeno (1).

Los procariotes fotoautótrofos, incluyendo las cianobacterias, aparecieron hace unos 3500 millones de años (ma) y las algas con cloroplastos encontradas en China tienen unos 1700 ma de antigüedad, lo que permite ir situando en el tiempo los grandes eventos ocurridos desde la aparición de la vida en nuestro planeta, tales como la fotosíntesis misma y el surgimiento de los eucariotes, que teóricamente tendrían alrededor de 2000 ma. Se piensa que las formaciones de hierro en rocas con 3800 ma de antigüedad probablemente provienen de oxígeno que no se liberó debido a la fotosíntesis, pero los depósitos mayores que tienen 2000-2500 ma, seguramente aparecieron debido a la actividad biológica, a la fotosíntesis, que a lo largo de millones de años fue liberando y acumulando oxígeno en la atmósfera; para los primeros depósitos la fotodisociación del agua podría explicar su acumulación.

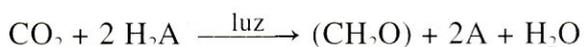
El fraccionamiento isotópico del carbono es también consistente con la interpretación de que las cianobacterias habrían aparecido hace unos 3500 ma; éstas son parte importante en la formación de estromatolitos, construcciones biosedimentarias macroscópicas producidas por el sedimento atrapado, unido y/o precipitado debido a la actividad bacteriana (2).

De acuerdo con Arnon históricamente dos conceptos guiaron la investigación sobre fotosíntesis

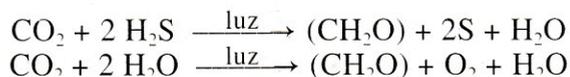
y el rearrreglo de los átomos: la fotodescomposición del  $\text{CO}_2$  y la fotodescomposición del agua. Ambos conceptos imaginaban la transferencia fotoinducida de átomos completos y no la transferencia de electrones.

El primer concepto de cómo se rearrreglan los átomos bajo la influencia de la luz fue la fotodescomposición del  $\text{CO}_2$  y está asociada con el nombre de Ingenhousz (1779) quien descubrió lo esencial de la luz para la fotosíntesis; de Saussure, algunos años después (1804) quien estableció que el agua es también un reactivo necesario para la fotosíntesis, pero no cambió la idea de Ingenhousz sobre la fotodescomposición del  $\text{CO}_2$ , lo cual fue aceptado hasta el siglo XX. El interés en la descomposición del  $\text{CO}_2$  probablemente se deba al razonamiento lógico pues si se rompe el  $\text{CO}_2$  se libera el  $\text{O}_2$  y queda el carbono para combinarlo con el agua y obtener carbohidratos  $\text{C}:\text{2H}:\text{O}$ , constituyentes mayoritarios de la materia vegetal.

El segundo concepto que influyó el estudio de la fotosíntesis moderna fue la fotodescomposición de los donadores de hidrógeno, propuesta por Van Niel. El propuso que la fotosíntesis bacteriana y vegetal son casos especiales de procesos de óxido-reducción inducidos por luz en los cuales el donador de hidrógeno,  $\text{H}_2\text{O}$  en las plantas y  $\text{H}_2\text{S}$  (o su equivalente) en bacterias fotosintéticas, se oxidan en tanto que el  $\text{CO}_2$  se reduce a materia orgánica. Como ecuación general para la fotosíntesis Van Niel (1931) propuso:



donde  $\text{H}_2\text{A}$  representa el donador de hidrógeno. De acuerdo con esta ecuación el oxígeno es un producto secundario de la fotosíntesis vegetal como el azufre elemental es el producto secundario de las bacterias fotosintéticas sulfurosas que utilizan el  $\text{H}_2\text{S}$  como donador de hidrógeno. En ambos casos la energía luminosa participa escindiendo la molécula del donador de hidrógeno.



En 1937 Hill inició sus investigaciones sobre la actividad fotoquímica de cloroplastos aislados,

descubriendo la reacción que lleva su nombre. La reacción de Hill es en realidad una serie de reacciones que representan la transferencia de átomos de hidrógeno (electrones más protones) a aceptores de hidrógeno, o de electrones únicamente a aceptores de electrones; los reactivos de Hill fueron la benzoquinona, que acepta átomos de hidrógeno y otros como el oxalato férrico o el ferricianuro que aceptan únicamente electrones.

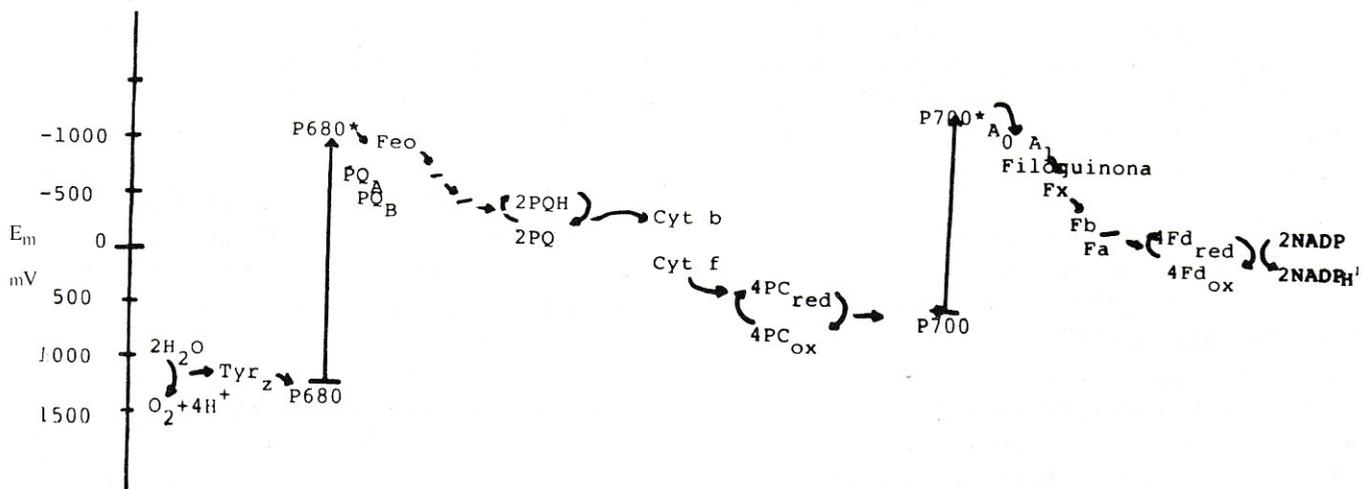
Las primeras propuestas del flujo de electrones inducido por luz fueron especulativas, sin evidencias experimentales significativas. Por otra parte, el descubrimiento del ciclo de la pentosa fosfato o de Calvin tampoco permitió establecer un papel directo para la luz en la asimilación del  $\text{CO}_2$ , ya que los pasos del ciclo probaron ser reacciones enzimáticas "oscuras" que no requieren la entrada directa de energía luminosa. El ciclo requiere para la reducción de 1 mol de  $\text{CO}_2$  a carbohidratos, 2 moles de  $\text{NADPH}+\text{H}^+$  y 3 moles de ATP.

La observación de que los cloroplastos pueden reducir el  $\text{NAD}^+$  o  $\text{NADP}^+$ , este último siendo la fuente de poder reductor para reducir el  $\text{CO}_2$ , no implicó gran controversia. En contraposición, la formación de ATP en cloroplastos sí causó mucha controversia, lo que llevó a proponer una cooperación entre el cloroplasto y la mitocondria, con el primero reduciendo el  $\text{NAD}^+$  y la segunda oxidándolo en presencia de oxígeno para dar ATP (1).

En la actualidad se tiene evidencia de que la mitocondria coopera con el cloroplasto durante la noche, o cuando no hay luz, cediéndole ATP a fin de que el primero mantenga un nivel mínimo de energía y de este modo mantener también las funciones en un nivel que le permitan conservar la integridad funcional y estructural.

## El FOTOSISTEMA 2 (PSII)

Arreglados en orden secuencial (Fig 1) puede decirse que este sistema es el que se encuentra al principio de la cadena fotosintética transportadora de electrones, pero históricamente se le denominó como fotosistema 2. Tiene más de 25 proteínas diferentes, incluidas las D1 y D2, que son parte fundamental del centro de reacción, pesan alrededor de 32 kDa cada una y parecen coordinar



**Figura 1.** Cadena transportadora fotosintética de electrones. Se requiere de un potencial electroquímico muy positivo para quitar los electrones a la molécula de agua, y de los dos fotosistemas para llevarlos hasta un potencial lo suficientemente negativo para reducir al NADP.

al complejo de manganeso; las antenas llamadas CP43 y CP47 que unen 20 moléculas de clorofila la primera y 21-22 la segunda. En conjunto el PSII tiene asociadas 220-230 moléculas de clorofila y dada su naturaleza dimerica tiene en total 460 moléculas de clorofila, aproximadamente, que están en una posición precisa, requerida para la interacción física entre pigmentos (3).

El centro de reacción del PSII es conocido como P680 (un par especial de moléculas de clorofila) y es el donador primario de electrones dependiente de luz y el primer aceptor estable es la feofitina (p<sub>heo</sub>) y en el estado P680<sup>+</sup> p<sub>heo</sub><sup>-</sup> son referidos como el par radical primario.

Primero, el P680\* excitado por los fotones absorbidos y transmitidos por las antenas cede un electrón a la feofitina; el P680 queda cargado y la feofitina reducida.

La antena del PSII es un embudo superficial que conduce la energía de excitación hacia el centro de reacción por un proceso llamado resonancia migrante; el flujo de energía entre la antena exterior (LHCII), la antena interior (CP43, CP47) y el centro de reacción es fácilmente reversible debido a esta característica de embudo somero que tiene la antena.



La feofitina, a su vez, cede el electrón desapareado a una quinona oxidada Q<sub>A</sub> que está unida a la proteína D2, permitiendo que la quinona regrese a su estado reducido y la feofitina se oxide.



Para regenerar la forma reducida del P680<sup>+</sup> se emplean electrones provenientes de una molécula de agua. Sin embargo, estos electrones no son transferidos directamente al P680, sino que se hace a través de un residuo específico de tirosina llamado Z<sup>+</sup> (Yz), que es la tirosina 161 de la proteína D1.



Así tenemos, en las reacciones anteriores, una plastoquinona anión radical al aceptar un electrón del P680, y un radical tirosil neutro Yz<sup>•</sup> reducido por el complejo de manganeso.

La transferencia de energía dentro del centro de reacción es muy rápida, lo que impide que la luz absorbida por la clorofila sea reemitida como fluorescencia. Como se señaló antes, el hecho de que en estos primeros pasos el electrón se mueva casi en un mismo nivel energético, hace factible la transferencia de energía hacia fuera del centro de reacción, de regreso a la antena. Pero sólo una pequeña parte de la luz que absorbe la clorofila es

emitida como fluorescencia, la mayor parte es utilizada en el transporte fotosintético de electrones. El paso ultrarrápido de un aceptor a otro crea una trampa cinética más que energética. Así, las plantas logran una separación de carga transmembranal, que es uno o el principal problema que enfrentan al tratar de aprovechar la energía luminosa, por ejemplo en fotoceldas: lograr la separación eficiente de cargas antes de que éstas se recombinen.

La eficiencia del proceso de transferencia de energía lumínica a una reacción de óxido-reducción es muy alta. El par  $P680^+phe^-$  conserva casi toda la energía contenida en el fotón absorbido por las antenas y se ha calculado un rendimiento cuántico cercano a uno. El P680 excitado dona un electrón desapareado a la feofitina en tres picosegundos, y en unos pocos cientos de picosegundos más, este electrón llega a la quinona A, que a su vez lo pasa a la quinona B, que acepta dos electrones de espín complementario, y dos protones y en este estado totalmente reducido abandona su sitio de unión a la proteína D1 y va hacia la matriz lipídica de la membrana, donde interactúa con el complejo b/f.

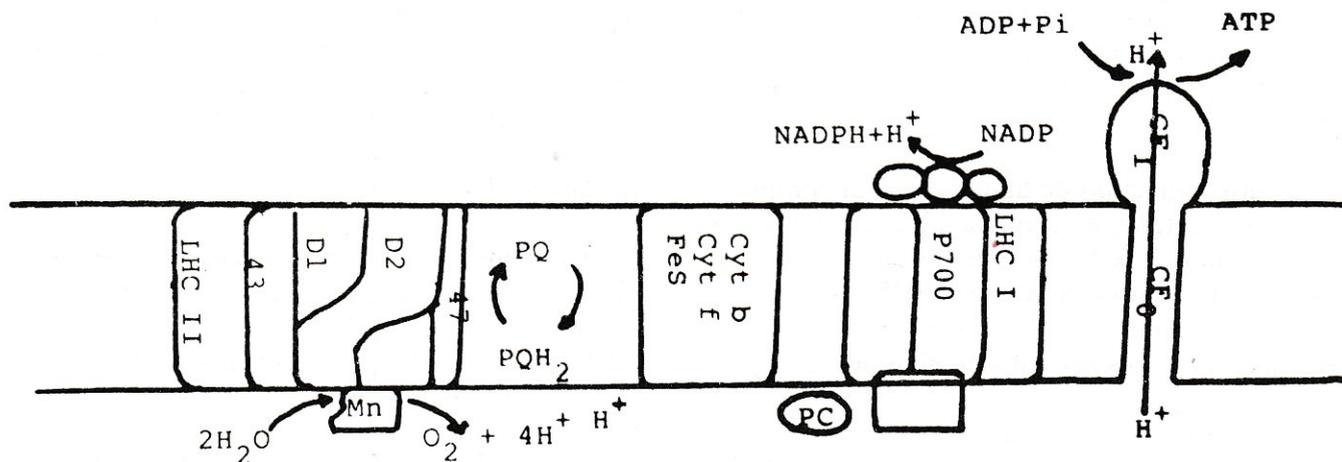
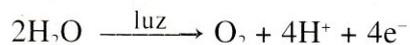
En conjunto, el PSII reduce a la plastoquinona (PQ) a plastoquinol ( $PQH_2$ ) y el plastoquinol reduce al complejo b/f que contiene siete polipéptidos, un citocromo f, un citocromo  $b_6$ , el complejo de Rieske, una clorofila y cuatro proteínas inte-

grales de membrana. Tanto la poza de plastoquinonas como el complejo b/f están involucrados en la regulación de la cinasa que se activa dependiendo del estado redox de la cadena transportadora, específicamente cuando estos componentes están reducidos (4). La quinona participa en el transporte de protones a través de la membrana creando el gradiente transmembranal; el complejo b/f parece ser un sitio alternativo de bombeo de protones que depende de la magnitud del gradiente para utilizarlo o no, en el transporte y posiblemente esté involucrado con la disipación de energía de que hablaremos más adelante.

### Complejo Liberador de Oxígeno

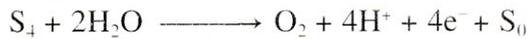
Los cuatro átomos de manganeso de este complejo están localizados sobre el lado del lumen del PSII, en cercanía a las proteínas D1 y D2 y son indispensables para tener un complejo funcional que escinda las moléculas de agua. El  $P680^+$  empuja la oxidación de Mn (II) a Mn (III) y el calcio es también indispensable para el ensamblaje de un complejo liberador de  $O_2$  competente (Fig 2).

Se requieren cuatro eventos secuenciales para extraer cuatro electrones de dos moléculas de agua, producir el  $O_2$  y liberar  $4H^+$  que contribuyen a la formación del gradiente de protones a través de la membrana tilacoidal.



**Figura 2.** El fotosistema II libera oxígeno y protones mientras los electrones del agua viajan a través de los otros componentes de la cadena, incluido el fotosistema I, hasta reducir al NADP y permitir la síntesis de ATP al generar el gradiente de protones.

Los ciclos de acumulación de electrones se dan paso a paso, hasta tener los cuatro necesarios para liberar un  $O_2$ , y estos estados se han designado con la letra S; en  $S_0$  no hay ningún electrón, en  $S_1$  hay un electrón, siendo  $S_0$  y  $S_1$  estables en la oscuridad.  $S_2$  es inestable y decae a  $S_1$ ;  $S_3$  también decae a  $S_1$  vía  $S_2$ . El estado  $S_4$ , generado por un "flash", reacciona espontáneamente con el agua generando el estado  $S_0$ , en una reacción que toma un milisegundo (ms).



La reducción de los estados  $S_2$  y  $S_3$  hacia  $S_1$  puede darse a través de un residuo de tirosina del polipeptido D2 denominado  $Y_D$ , o a través de otros componentes endógenos.

Los cuatro átomos de manganeso se encuentran como dos pares, con una distancia interna Mn-Mn de 2.7 Å y una distancia entre pares de manganeso de 3.3-3.4 Å; el átomo de calcio está unido a una distancia de 3.3-3.4 Å de uno de los átomos de manganeso.

El manganeso puede ser removido sin destruir la matriz proteica y la reinserción del metal se logra en un proceso en el que se requiere luz y es conocido como fotoactivación, que consta al menos de dos reacciones de luz separadas por un proceso de estabilización en la oscuridad.

Parece que el agua se une al Mn en  $S_1$  ( $S_0$ ). Se ha propuesto que  $Y^{ox}$  sustrae átomos de hidrógeno del agua, lo que le permitiría al Mn permanecer eléctricamente neutro, o casi, en todos los estados S.

Las dos moléculas de agua unidas al complejo tienen tasas diferentes de intercambio  $H_2^{16}O/H_2^{18}O$  en los estados  $S_2$  y  $S_3$ . Uno de los átomos de oxígeno se intercambia en menos de 25 ms y el otro en 500 ms, lo que indica que las moléculas de agua están en ambientes distintos en el estado  $S_3$ .

En la transición de  $S_3$  a  $S_4$  a  $S_0$  el oxígeno es liberado y el agua se religa al complejo de Mn (el estado  $S_4$  no se ha podido detectar experimentalmente pues reacciona rápidamente). El complejo está abierto a la entrada del agua en  $S_4$  ( $S_0$ ), pero

una entrada rápida durante el último paso  $Y^{ox} S_3 \rightarrow Yz S_0 + O_2$  no puede ser excluida.

Así, la absorción de luz por parte de la clorofila provoca que un electrón, proveniente del P680, sea empujado a través de la cadena transportadora, y este electrón perdido por el P680 es repuesto por los electrones que el complejo liberador del agua le arranca a ésta al romper la molécula, liberar al oxígeno y poner a viajar a los electrones del hidrógeno por la cadena transportadora, mientras los protones quedan del lado del lumen para formar el gradiente electroquímico (5).

El complejo b/f cede sus electrones a la plastocianina, una proteína periférica localizada en el lado del lumen de la membrana tilacoidal y que pesa 10.5 kDa; el centro redox de la plastocianina es un ion cobre. La apoplastocianina parece tener una estructura secundaria distinta a la de la holoenzima, lo que la haría más susceptible a la acción de proteasas cuando la planta tiene deficiencia de cobre.

### FOTOSISTEMA 1 (PS I)

La plastocianina cede sus electrones al PSI, llamado así por ser el primero en descubrirse. Este centro tiene entre 11-17 polipéptidos distintos, 90 moléculas de clorofila a, 10-15 de  $\beta$  caroteno, dos quinonas y tres centros fierro-azufre.

El centro de reacción del PSI, conocido como P700, es un dímero de clorofila a, que está reducido en la oscuridad y transfiere electrones a  $A_0$  (aceptor primario); una molécula de quinona (Vitamina  $K_1$ ) que acepta electrones de  $A_0$  reducido y de  $A_1$  reducido (aceptor secundario) que transfiere los electrones a los tres centros fierro-azufre designados Fx, Fb y Fa (6).

La columna central es un heterodímero compuesto de las subunidades PSI-A y PSI-B.

El PSI consume rápidamente los electrones que le cede la plastocianina.

Luego de la quinona el electrón llega a las proteínas fierro-azufre (Fx, Fb, Fa) localizadas dentro del complejo, de donde pasa a la ferredoxina, proteína que tiene un peso molecular de 11 kDa. La

reducción del NADP requiere de la ferredoxina reducida y de la NADP<sup>+</sup>reductasa, una flavoproteína. Esta reductasa cataliza la reducción del NADP<sup>+</sup> ferredoxina, y en ausencia de NADP<sup>+</sup> la ferredoxina es reoxidada por oxígeno molecular, lo que da como resultado la síntesis de ATP pero no produce NADPH y es llamada fotofosforilación pseudocíclica.

La actividad de los fotosistemas es secuencial y ambos son necesarios para llevar los electrones hasta el aceptor final que es el NADP; se han obtenido mutantes de algas que no tienen PSI, pero crecen en condiciones de luz muy tenue y con suplemento de compuestos orgánicos.

La ferredoxina dona electrones también para la reducción de nitrato a amonio, sulfato a sulfuro, y a la tiorredoxina, la cual a su vez se reduce, y activa, varias enzimas del ciclo de Calvin.

La célula puede regular su producción de ATP o poder reductor según sus necesidades y así reducir el nitrato a amonio o emplear el ATP en la síntesis de péptidos (1).

La fotofosforilación cíclica se efectúa regresando los electrones desde la ferredoxina hacia el complejo b/f, aunque hay otra proteína, la flavodoxina, recientemente encontrada en *Synechocystis* cepa PCC 6803 y que es la encargada de regresar los electrones hacia el complejo b/f o hacia las plastoquinonas (el lugar preciso no está bien establecido) y que suple casi completamente a la ferredoxina en sus funciones. *Synechocystis* expresa la flavodoxina cuando requiere la síntesis adicional de ATP, por ejemplo para el transporte iónico en condiciones salinas; este flujo le permite a la célula tanto la síntesis adicional de ATP, sin la generación de poder reductor, como una forma de disipar energía para evitar daño al aparato fotosintético bajo ciertas condiciones. Por ejemplo, la alta intensidad luminosa puede llevar a una oxidación total o completa de la cadena transportadora de electrones lo que puede inactivarla de modo permanente. En sí misma, la generación del potencial transmembranal permite la disipación de energía, y este potencial a su vez permite la entrada en función de un tercer mecanismo, que parece involucrar a las proteínas de los complejos, como las del LHCII (7).

### COMPLEJO COLECTOR DE LUZ (LHCII)

La función de los complejos colectores de luz es absorber fotones y transferirlos al centro de reacción, a través de las antenas. El péptido principal del LHCII es llamado LHCIIB o proteína ligadora de clorofila y tiene un 42% de la clorofila presente en los tilacoides.

Los complejos menores son llamados LHCIIA, LHCII c/c', LHCIID y LHCIIE y cada uno tiene cerca del 3% de la clorofila tilacoidal. Las clorofitas, rodofitas, cromofitas y dinoflagelados tienen proteínas antena que pertenecen a la familia LHC, lo que hace pensar en que existen relaciones evolutivas entre estos organismos.

El complejo, como tal forma trímeros y al menos cuatro de estos trímeros se unen a una unidad del PSII. Cada péptido del LHCII une 12 clorofilas, 7 de a y 5 de b, 2 luteinas y cantidades no estequiométricas de violaxantina y neoxantina, estas últimas sirven como apagadores de las clorofilas excitadas y evitan el fotodaño cuando los fotosistemas no alcanzan a drenar la energía de excitación. Se piensa que los carotenoides son requeridos principalmente, para apagar el estado triplete de la clorofila a, pues la transferencia de energía desde la clorofila b a la clorofila a es mucho más rápida (picosegundos) que el tiempo de vida del estado triplete, que es de varios nanosegundos. También se ha propuesto que los carotenoides funcionan dando cierta estabilidad a la membrana, a la que atraviesan de lado a lado, en una orientación precisa (8).

Durante el desarrollo del cloroplasto en chícharo las proteínas colectoras de luz pueden ser detectadas luego de 12 h de exposición a luz, la poza de plastoquinonas puede reducirse aproximadamente en el mismo lapso de tiempo y el citocromo b/f también puede ser inmunodetectado. Se requiere de una señal proveniente del cloroplasto para la expresión de genes nucleares que codifican para proteínas que participan en la fotosíntesis y esta señal regula su expresión aún en ausencia de luz; por otra parte, el genoma nuclear codifica los componentes necesarios para el inicio de la diferenciación del plastidio y para la expresión de genes del cloroplasto. La colaboración entre los genomas del núcleo y del cloroplasto se puede ejemplificar con

la RNA polimerasa, una codificada en el genoma nuclear y otra codificada por el genoma del organelo (9).

Las plantas cultivadas en luz intermitente detienen el desarrollo de los plastidios en el estado de protocloroplastos sin grana que sintetizan clorofila a y carotenoides pero no clorofila b. Estos protocloroplastos tienen cadena transportadora de electrones y centros de reacción funcionales y cuando se exponen a iluminación continua hay una rápida acumulación de apoproteínas del LHC y se convierten en cloroplastos maduros.

Las plantas cultivadas a baja irradiación luminosa tienen relativamente más LHCII por PSII, lo que ayudaría a una mayor eficiencia para captar fotones; en otras condiciones, por ejemplo cuando se favorece la iluminación del PSII el LHCII es fosforilado y se mueve hacia el PSI, proveyendo de energía de excitación a éste.

En las membranas de los tilacoides los complejos están distribuidos de tal manera que el PSII y

su centro colector de luz se localizan en las regiones apiladas, mientras que el PSI se encuentra en la región no apilada y el complejo b/f se reparte aproximadamente por igual (Fig 3).

Cuando el LHCII está defosforilado se une al PSII, a esta condición se le conoce como el estado 1; cuando en la poza de plastoquinonas aumenta la relación PQH<sub>2</sub>/PQ se activa una cinasa que fosforila al LHCII, que entonces se mueve hacia la región no apilada donde está el PSI, disminuyendo así la cantidad de luz absorbida por el PSII en relación al PSI; este es el estado 2. Otro tipo de control a más largo plazo incluye la síntesis de uno o algunos de los componentes según las condiciones de iluminación en que crezca la planta (10).

La movilización del LHCII y su asociación con uno u otro centro sirve como un mecanismo de control que está integrado a una red de regulación fotosintética que mantiene un balance entre la actividad del ciclo de Calvin, la carga de energía en el estroma del cloroplasto y el transporte de electrones.

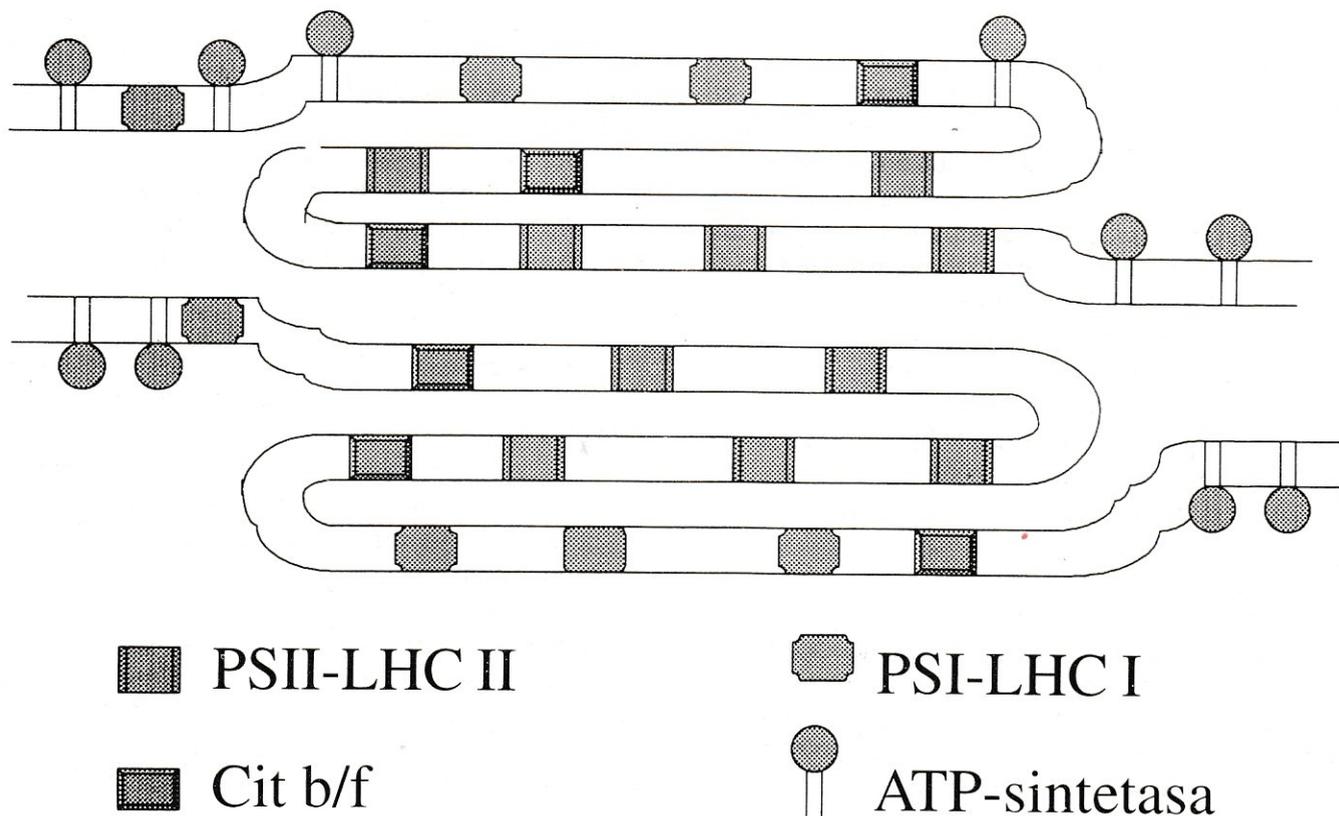


Figura 3. Esquema de la distribución de los distintos complejos en las membranas tilacoidales.

El LHCI se asocia al PSI y es específico para este fotosistema, contiene clorofila a y b y cerca del 20% de la clorofila de los tilacoides.

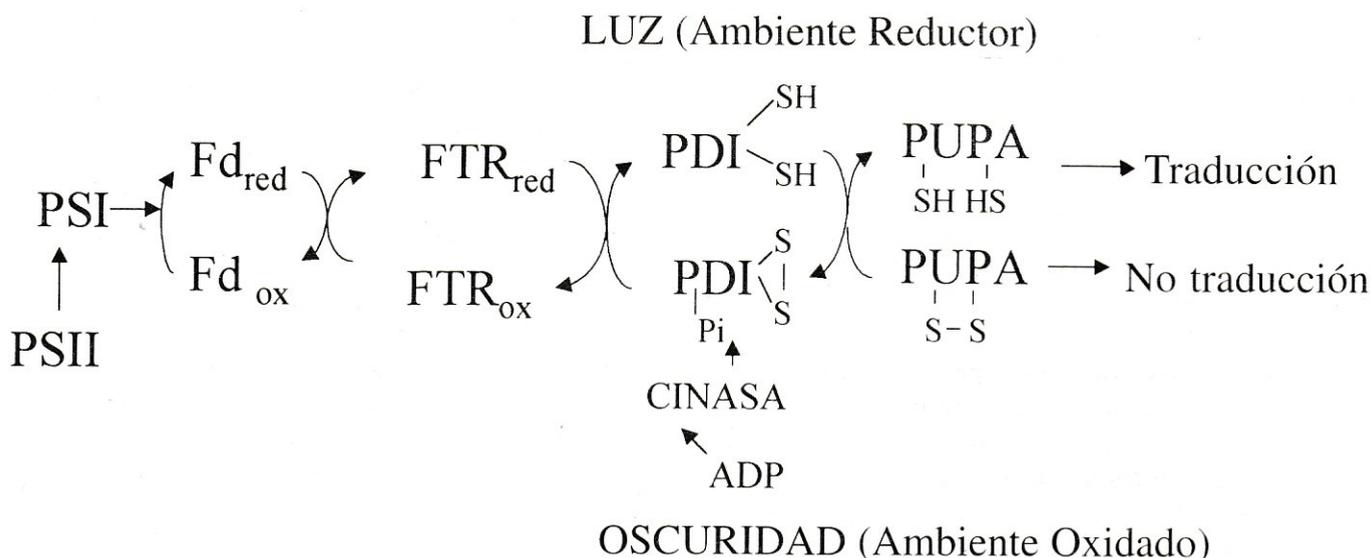
La acumulación de apoproteínas del LHCI se ve afectada cuando la acumulación de clorofila b es limitada. El LHCI se ensambla primero como monómero y luego como trímero antes de ser ensamblados al PSI (11).

La fotosíntesis, como otros procesos de conversión y/o aprovechamiento de energía es llevada a cabo en un sistema de membranas, en este caso los tilacoides del cloroplasto, pero además mediante el uso de mutantes se ha visto que para este proceso se requiere de una membrana que contenga en sus ácidos grasos altos niveles de insaturación, mientras que otros procesos no se ven mayormente afectados por esta característica.

El gradiente de protones generado por la cadena transportadora de electrones es utilizado por la ATP sintetasa, que tiene un complejo catalítico o  $CF_1$  y un complejo que une a la enzima con la membrana y permite el paso de los protones a través de ésta, que es el  $CF_0$ ; esta enzima es sumamente compleja y la de cloroplasto está formada por nueve distintas subunidades y es regulada de un modo distinto a la de mitocondria o de bacteria; se requiere de la formación del gradiente electroquímico a través de la membrana tilacoidal para activar la enzima, además de la reducción de un enlace disulfuro en una de las subunidades llamada gamma; el gradiente de protones provoca repulsión electrostática entre la  $CF_1$  y la  $CF_0$ , lo que facilita la reducción del enlace; hay además una subunidad epsilon que funciona como inhibidor de la enzima cuando se disipa el gradiente de protones y evita su actividad hidrolítica, por ejemplo durante la noche (12).

Otros aspectos interesantes y que atraen la atención en el estudio de la fotosíntesis son los distintos tipos que se conocen, la tipo CAM (o MAC): metabolismo ácido de las crasuláceas; la  $C_3$  y la  $C_4$ , la forma en que se establece la relación fuente-demanda a fin de lograr una mayor acumulación de materia seca. Por otro lado, el estudio de la influencia que tendrá el aumento

en la concentración de dióxido de carbono atmosférico es también de interés antropocéntrico (13). Se ha encontrado que existe una gran cantidad de factores que influyen en esta actividad fotosintética, incluyendo las relaciones de hormonas vegetales, como las citocininas, los brasinosteroides, el ácido abscísico (14). Muchos productos metabólicos afectan también a la fotosíntesis, de hecho, los carbohidratos regulan negativamente la expresión de los genes fotosintéticos. Cambios ambientales como el frío favorecen la fotoinhibición cuando hay alta intensidad luminosa, fenómeno que también se observa cuando el calor se une a la sequía, cosa muy frecuente. Lo que provoca también un recambio muy rápido de la proteína D1. Este fenómeno ha sido de mucho interés y al parecer la fosforilación de la proteína D1 es llevada a cabo, probablemente, por una cinasa controlada en parte por el estado redox de la cadena transportadora de electrones y esta fosforilación parece retrasar la degradación de la proteína D1. Se sabe que la proteína es insertada en la membrana al mismo tiempo que es traducido su ARNm. El control que se ejerce sobre la transcripción y la traducción queda de manifiesto con el efecto de la proteína D2 sobre la síntesis de la D1. El gen que codifica para la proteína D2 tiene cuatro promotores y uno de ellos responde específicamente a luz azul intensa, activándose la transcripción; otro durante el desarrollo del cloroplasto, proceso que se ve afectado por el fitocromo B, principalmente, pero que requiere de la coordinación entre el genoma del cloroplasto y del núcleo. Existe además otro control a nivel traduccional para la D1, por medio de una proteína que se une al ARNm de la D1 y que promueve un incremento de 50-100 veces en su traducción. En la luz los fotosistemas reducen a la ferredoxina (Fd), que a su vez reduce a la ferredoxina-tiorredoxina-reductasa (FTR) y ésta reduce a la disulfuro isomerasa (PDI), que finalmente reduce a la proteína que se une al sitio poliadenilado del ARNm, (PUPA) y activa la transcripción. La fosforilación de la disulfuro isomerasa favorece la catalisis oxidativa, disminuyendo la traducción en la oscuridad; la cinasa que fosforila a la PDI es además dependiente de ADP, que es más abundante cuando hay baja carga energética (Fig 4) (15).



**Figura 4.** En presencia de luz el transporte de electrones desde el PSII hasta la proteína de unión al poli A (PUPA) la reducen y permiten su unión al ARNm para que sea traducido. En la oscuridad, además de la oxidación de las proteínas que intervienen en esta vía, se activa una cinasa dependiente de ADP, que fosforila a la disulfuro isomerasa (PDI) y disminuye la interacción de ésta con la PUPA.

## REFERENCIAS

1. Arnon D I (1991) Photosynthetic electron transport: emergence of a concept. *Photosynthesis Res* 29:117-131.
2. Awramik S M (1992) The oldest records of photosynthesis. *Photosynthesis Res* 33:75-89.
3. Barber J, Nield J, Morris E P, Zheleva D y Hankamer B (1997) The structure, function and dynamics of photosystem two. *Physiol Plant* 100:817-827.
4. Cramer W A, Soriano G M, Zhang H, Ponamarev M V y Smith J L (1997) The cytochrome  $b_6/f$  complex. Novel aspects. *Physiol Plant* 100:852-862.
5. Hoganson C W y Babcock G T (1997) A metalloradical mechanism for the generation of oxygen from water in photosynthesis. *Science* 277:1953-1956.
6. Scheller H V, Naver H y Moller B L (1997) Molecular aspects of photosystem I. *Physiol Plant* 100:842-851.
7. Hagemann M, Jeanjean R, Fulda S, Havaux M, Joset F y Erdmann N (1999) Flavodoxin accumulation contributes to enhanced cyclic electron flow around photosystem I in salt-stressed cells of *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. *Physiol Plant* 105:670-678.
8. Dreyfuss B W y Thornber J P (1994) Assembly of the light-harvesting complexes (LHCs) of Photosystem II. *Plant Physiol* 106:829-839.
9. Sullivan J A y Gray J C (1999) Plastid translation is required for expression of nuclear photosynthesis genes in the dark and in roots of the pea lip 1 mutant. *Plant Cell* 11:901-910.
10. Snyders S y Kohorn B D (1999) TAKs, Thylakoid membrane protein kinases associated with energy transduction. *J Biol Chem* 274:9137-9140.
11. Zhang L, Paakkarinen V, Van Wijk KJ y Aro E M (1999) Co-translational assembly of the D1 protein into photosystem II. *J Biol Chem* 274:16062-16067.
12. Groth G y Strotmann H (1999). New results about structure, function and regulation of the chloroplast ATP synthase ( $CF_0CF_1$ ). *Physiol Plant* 106:142-148.
13. McConn M y Browse J (1998) Polyunsaturated membranes are required for photosynthetic competence in a mutant of *Arabidopsis*. *Plant J* 15:521-530.
14. Kende H y Zeevaart J A D (1997) The five classical plant hormones. *Plant Cell* 9:1197-1210.
15. Kim J y Mayfield S P (1997) Protein disulfide isomerase as a regulator of chloroplast translational activation. *Science* 278:1954-1957.

# LAS HEMOGLOBINAS NO SIMBIÓTICAS DE LAS PLANTAS

Katerina Lira Ruan, Elena Aréchaga Ocampo, Mario Ramírez Yáñez, Miriam Sánchez Sánchez y Raúl Arredondo Peter. Centro de Investigación sobre Fijación de Nitrógeno, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 565-A, 62210 Cuernavaca, Morelos, México. Correo electrónico: ra@cifn.unam.mx

## RESUMEN

Las hemoglobinas (Hbs) son proteínas que transportan el  $O_2$  en los organismos. En las plantas existen dos tipos de Hbs: las Hbs no simbióticas (del Tipo 1), y las Hbs simbióticas (del Tipo 2). La mayoría de las Hbs simbióticas se sintetizan exclusivamente en los nódulos de las plantas fijadoras de  $N_2$ , en donde funcionan como transportadores de  $O_2$  a los bacteroides. Las Hbs no simbióticas se distribuyen ampliamente en el reino vegetal, desde las plantas terrestres más primitivas hasta las especies dicotiledóneas y monocotiledóneas más evolucionadas, en donde se sintetizan en diversos órganos de la planta. La función de las Hbs no simbióticas se desconoce, sin embargo, con base en algunas características bioquímicas, como su elevada afinidad por el  $O_2$ , y el patrón de expresión de los genes *hb* en las plantas se ha sugerido que estas proteínas tienen funciones distintas al transporte de  $O_2$ . El análisis de la estructura de los genes *hb* vegetales sugiere que las Hbs simbióticas podrían ser el resultado de la especialización de algunas Hbs no simbióticas, y que las Hbs vegetales descendieron a partir del mismo ancestro.

**PALABRAS CLAVE:** Estrés, evolución, fijación de nitrógeno, hemoglobina, oxígeno, simbiosis.

## ABSTRACT

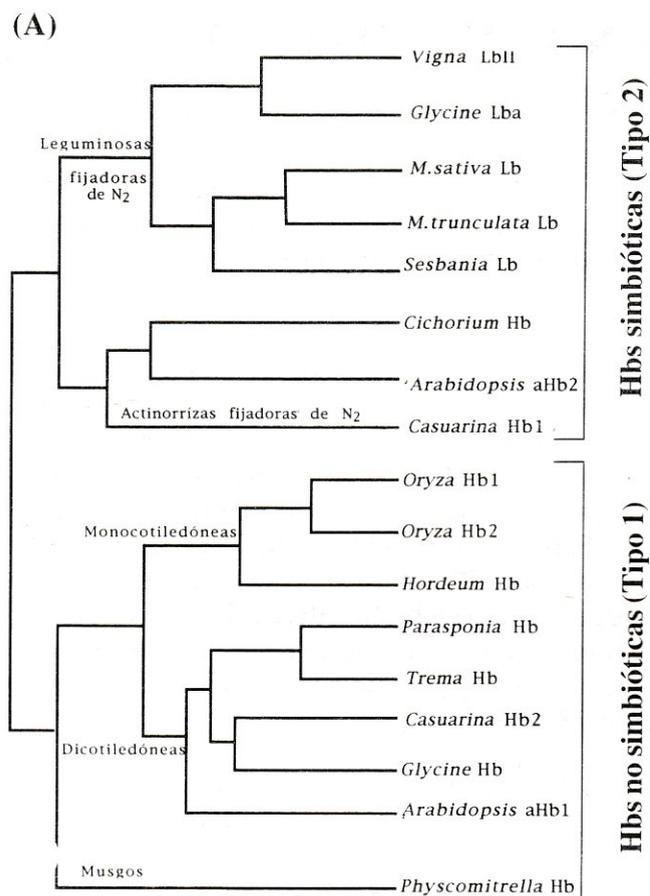
Hemoglobins (Hbs) are hemoproteins that transport  $O_2$  in organisms. In plants, two classes of Hbs have been described: the non symbiotic (Class 1) and symbiotic (Class 2) Hbs. Most of symbiotic Hbs are synthesized only in nodules of nitrogen-fixing plants, and function by facilitating the diffusion of  $O_2$  to the bacteroids. Non symbiotic Hbs are widely distributed in the plant kingdom, ranging from bryophytes to the most evolved dicots and monocots, and they are synthesized in dif-

ferent plant organs. The function of non symbiotic Hbs is not known, however based on their biochemical properties, such as the very high affinity for  $O_2$ , and the *hb* gene expression pattern in plants, it has been suggested that the non symbiotic Hbs have different or additional functions to  $O_2$  transport. Structure analysis of plant *hb* genes suggests that symbiotic Hbs evolved as a specialization of non symbiotic *hb* genes, and that symbiotic and non symbiotic Hbs evolved from a common ancestor.

**KEY WORDS:** Evolution, hemoglobin, nitrogen fixation, oxygen, stress, symbiosis.

## GENERALIDADES

Las hemoglobinas (Hbs) son proteínas que pertenecen al grupo de las globinas y que contienen hemo como grupo prostético, el cual permite la unión reversible del oxígeno ( $O_2$ ) y otros ligandos gaseosos. Las Hbs se han detectado en todos los grupos de organismos, desde las bacterias hasta los vertebrados, en donde su función principal se relaciona con el transporte y almacén de  $O_2$ . Las Hbs son proteínas ubicuas en las plantas, ya que se localizan en los nódulos de especies leguminosas y actinorrizas que fijan el nitrógeno,  $N_2$ , y en diversos órganos de especies no fijadoras de  $N_2$ . El análisis comparativo entre las secuencias de residuos de aminoácidos sugiere que en las plantas existen dos tipos de Hbs que se relacionan estrechamente: las Hbs del Tipo 1, o Hbs no simbióticas, y las Hbs del Tipo 2, o Hbs simbióticas (Fig 1A) (1). Las Hbs no simbióticas se descubrieron recientemente y constituyen un grupo de proteínas con características bioquímicas particulares, cuya función en las plantas se desconoce. Por su parte, las Hbs simbióticas que se sintetizan en los nódulos se han caracterizado con detalle, y se cree que su función es transportar el  $O_2$  hasta los bacteroides fijadores



**Figura 1 (A)** Fenograma que muestra la similitud entre las secuencias de residuos de aminoácidos de las Hbs vegetales que se alinean en (B), y que se obtuvo al utilizar la rutina PILEUP del programa GCG.

de  $N_2$  (2). En esta revisión se discuten aspectos generales sobre las Hbs simbióticas y, con mayor detalle, las características de las Hbs no simbióticas en relación con (i) su función en los tejidos vegetales, (ii) la relación que tienen estas proteínas con las Hbs simbióticas, y (iii) la evolución de las Hbs en las plantas.

### HEMOGLOBINAS SIMBIÓTICAS

Las Hbs simbióticas se descubrieron en 1939 en los nódulos de plantas leguminosas (3), por lo que se les llama leghemoglobinas (Lbs). Desde entonces estas proteínas se han estudiado en diversas especies de leguminosas, tal como el frijol (*Phaseolus vulgaris*), la soya (*Glycine max*), la alfalfa (*Medicago sativa*), el trébol (*Trifolium repens*) y el lupino (*Lupinus luteus*). Las Hbs simbióticas son las proteínas más abundantes en los nódulos, en donde representan hasta el 30% de las proteínas

solubles. Estas proteínas tienen una afinidad alta por el  $O_2$  debido a que la constante de asociación, "k on", es elevada y a que la constante de disociación, "k off", es moderadamente baja. Por lo tanto, se cree que las Hbs simbióticas contribuyen al proceso de fijación de  $N_2$  al facilitar la difusión del  $O_2$  hasta los bacteroides para mantener la respiración y la producción de energía en la forma de ATP. Las Lbs se sintetizan específicamente en los nódulos, y no se les ha detectado en otros órganos de la planta (2).

Además de las Lbs, también se ha estudiado una Hb que se localiza en los nódulos de *Parasponia andersonii* (4). Esta planta pertenece a la familia Ulmaceae, y es la única especie no leguminosa conocida que es nodulada por *Rhizobium*. La Hb de *Parasponia* es una proteína homodimérica con masa molecular de ~ 35 kDa, y cuya afinidad por el  $O_2$  es similar a la afinidad que tienen las Lbs por este elemento. Por lo tanto, se cree que la función de la Hb en los nódulos de *Parasponia* es transportar el  $O_2$  hacia los bacteroides. No obstante, a diferencia de los genes *lb*, el gen *hb* de *Parasponia* se expresa en tejidos diferentes a los nódulos; sin embargo, la función de la Hb de *Parasponia* en esos tejidos se desconoce.

Las Hbs simbióticas se han detectado en otras especies de plantas dicotiledóneas. En *Arabidopsis thaliana* se detectaron dos genes *hb*, *ahb1* y *ahb2*. La similitud entre la secuencia de residuos de aminoácidos de aHb1 y aHb2 es del 69%, sin embargo, aHb1 y aHb2 tienen mayor similitud con las Hbs no simbióticas y simbióticas, respectivamente, por lo que aHb1 se considera como una Hb no simbiótica y aHb2 como una Hb simbiótica (Fig 1A). Los genes *hb* de *Arabidopsis* se expresan en las rosetas y raíces cuando la planta crece en condiciones normales (1). En *Cichorium* se aisló un ADNc que codifica para una Hb. Esta Hb es un péptido de 161 residuos de aminoácidos y una masa molecular de 18 kDa. Mediante la comparación de las secuencias de residuos de aminoácidos se determinó que la Hb de *Cichorium* tiene mayor similitud con las Hbs simbióticas (Fig 1A). El gen *hb* de *Cichorium* se expresa durante el inicio de la embriogénesis somática de las hojas, y la función de la Hb en esos tejidos se desconoce (5).

## HEMOGLOBINAS NO SIMBIÓTICAS

### a) Hemoglobinas no simbióticas de plantas dicotiledóneas

La clonación del gen *hb* de *Parasponia* permitió la detección de los genes *hb* en otras especies dicotiledóneas. *Trema tomentosa* es una planta que pertenece a la familia Ulmaceae, pero que no nodula, y por lo tanto tampoco fija N<sub>2</sub>. Mediante el uso del gen *hb* de *Parasponia* como sonda molecular, fue posible aislar el gen *hb* de *Trema* el cual codifica para una Hb monomérica que se sintetiza en bajas concentraciones en las raíces de la planta (6). En la soya, existen al menos dos genes *hb* no simbióticos, los cuales se regulan independientemente a los genes *lb*. Los transcritos, ARNm, de la Hb no simbiótica de la soya se detectaron en cotiledones, nódulos, raíces, tallos y hojas de plantas maduras (7). Aunque el nivel de expresión del gen *hb* no simbiótico es semejante en las raíces y los nódulos de las plantas de soya, la expresión de estos genes no simbióticos difiere considerablemente del patrón de expresión de los genes *lb*, el cual es muy alto y exclusivo de los nódulos.

### b) Hemoglobinas no simbióticas de plantas monocotiledóneas

Los genes y transcritos de Hbs no simbióticas se han detectado en las plantas monocotiledóneas. Taylor et al (8) clonaron el ADNc de la Hb de la cebada, *Hordeum vulgare*. Al comparar la secuencia de los residuos de aminoácidos de la Hb de la cebada con la Hb de *Parasponia* se encontró que ambas proteínas tienen una similitud del 71%, y que la Hb de la cebada contiene los residuos de aminoácidos que están altamente conservados en las Hbs vegetales, tal como las histidinas distal y proximal (Fig 1B), que son los aminoácidos que coordinan al hierro (Fe) del grupo hemo en la mayoría de las Hbs. Al parecer, en la cebada existe una sola copia del gen *hb* que codifica para una Hb homodimérica de 37 kDa, la cual se localiza en las raíces y semillas de la planta. En el arroz, *Oryza sativa*, existen por lo menos tres copias del gen *hb*, de las cuales dos son funcionales, es decir, que se transcriben en ARNm. La comparación de las secuencias de residuos de aminoácidos entre Hb1 y Hb2 del arroz muestra que ambas proteínas son similares en un 93%, y entre 68 y 82% con otras Hbs no simbióticas. Los genes *hb1* y *hb2* se expresan diferencialmente en plantas maduras de arroz:

*hb1* se expresa en las hojas y raíces, y *hb2* se expresa sólo en las hojas, lo que indica que los genes *hb* del arroz se regulan por diferentes promotores (9).

## EXPRESIÓN DE LOS GENES *hb* NO SIMBIÓTICOS EN PLANTAS QUE CRECEN EN CONDICIONES DE ESTRÉS

La función de las Hbs no simbióticas se desconoce. Sin embargo, el análisis de la expresión de los genes *hb* es una herramienta útil para entender la función de estas proteínas. Se ha observado que la expresión de los genes *hb* no simbióticos se modifica cuando la planta crece en condiciones de estrés, lo que sugiere que la función de las Hbs no simbióticas se relaciona con la respuesta de la planta al estrés. El gen *ahb1* de *Arabidopsis* se expresa en las raíces de plantas que crecen en condiciones normales, y se sobreexpresa en las hojas y raíces cuando las plantas se encuentran en condiciones de hipoxia. Por su parte, el gen *ahb2* de la misma especie se expresa en las hojas de plantas que crecen en condiciones normales, y se sobreexpresa cuando las plantas se someten a bajas temperaturas (1). La expresión del gen *hb* de la cebada se incrementa cuando las plantas se someten a condiciones de microaerobiosis (8), y cuando se bloquea la síntesis de ATP (en 10). En condiciones de microaerobiosis el gen *hb* de la cebada se expresa en niveles que son comparables a la expresión de los genes *ldh* y *adh*, que codifican para las enzimas lactato deshidrogenasa (LDH) y alcohol deshidrogenasa (ADH), respectivamente, las cuales son marcadores del metabolismo anaerobio (glucolítico). Mas aún, al transformar células de maíz con el gen *hb* de la cebada, el nivel energético de estas células no se altera cuando el gen *hb* se expresa constitutivamente bajo condiciones de hipoxia; en cambio, en las células de maíz no transformadas descendió el nivel energético (cuantificado como la concentración de ATP) bajo las mismas condiciones. Estos resultados sugieren que las Hbs no simbióticas podrían funcionar en el metabolismo energético de las células vegetales (10).

## CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DE LAS HEMOGLOBINAS NO SIMBIÓTICAS

Para estudiar las características bioquímicas de las proteínas es necesario obtener cantidades considerables de la proteína de interés. La concentración de las Hbs no simbióticas en los tejidos de las



Hbs no simbióticas, es similar a la estructura de las Hbs de diversos organismos, ya que todas presentan el plegamiento del tipo globina, el cual comprende de 7 a 8 hélices alfa que se denominan con las letras A a la H. La hendidura para el hemo es una región conservada y se forma entre las hélices E y F. En esta región se localizan las histidinas distal y proximal, His E7 y F8, respectivamente, que coordinan al Fe del hemo. El átomo de Fe también está coordinado por los cuatro anillos pirrólicos del hemo. Por lo tanto, se dice que el Fe está pentacoordinado cuando establece un enlace electrostático con los cuatro pirroles del hemo y el imidazol de la histidina proximal (Fig 2A); en estas circunstancias el átomo de Fe puede unir ligandos en la sexta posición.

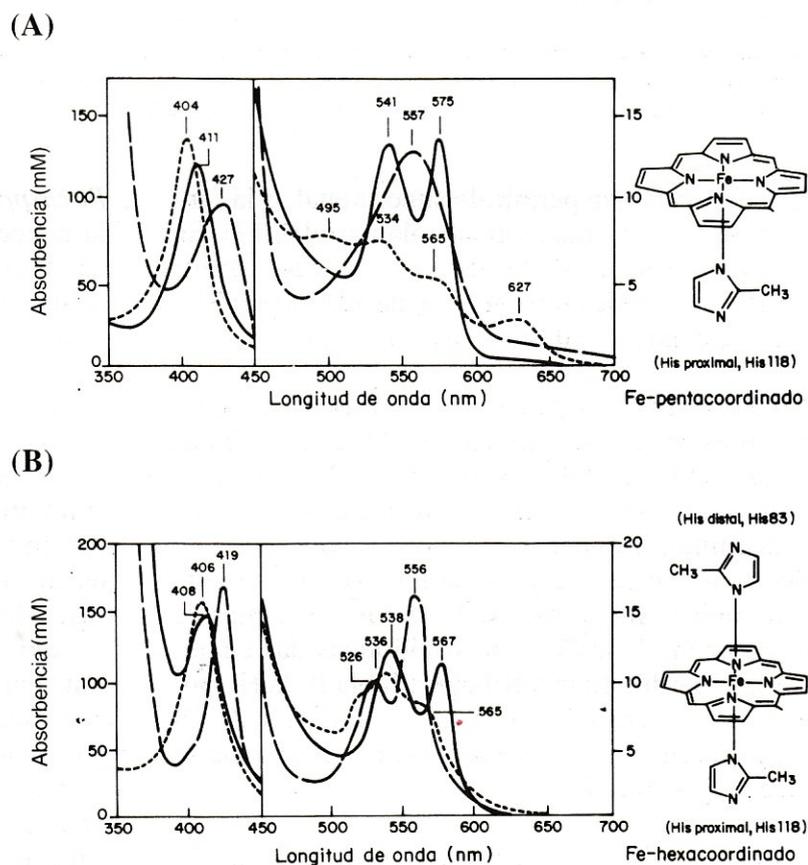
El estado de óxido-reducción de las Hbs, la coordinación del Fe y la unión de ligandos se puede estudiar mediante el uso de técnicas espectrofotométricas. En la figura 2A se muestran los espectros de absorción de una Hb simbiótica en las formas reducida ( $\text{Fe}^{2+}$ ), oxigenada ( $\text{Fe}^{2+}\text{O}_2$ ), y oxidada ( $\text{Fe}^{3+}$ ). En las Hbs en general, en donde el Fe se encuentra pentacoordinado (en la forma  $\text{Fe}^{2+}$ , o reducida desoxigenada), se observa un pico amplio con un máximo de absorción a 557 nm, y otro en la región S<sub>ret</sub> con un máximo a 427 nm. Sin embargo, las Hbs no simbióticas del arroz y la cebada tienen máximos de absorción a 556 y 526 nm cuando se encuentran en la forma reducida desoxigenada (Fig 2B), lo cual indica que la sexta posición del Fe está coordinada por algún ligando. Mediante el uso de mutagénesis dirigida, Arredondo-Peter et al (9) demostraron que el sexto ligando del  $\text{Fe}^{2+}$  en la Hb1 no simbiótica del arroz es la histidina distal. Por lo tanto, en estas condiciones el Fe de Hb1 se encuentra hexacoordinado (Fig 2B), lo cual es una característica única en el grupo de las globinas.

Otra característica distintiva de las Hbs no simbióticas es que tienen una afinidad muy alta por el  $\text{O}_2$ , lo que se debe a que la *k* off del  $\text{O}_2$  es extraordinaria-

mente baja (Tabla I). Es decir, bajo las condiciones de estudio estas Hbs no liberan el  $\text{O}_2$  una vez que se une al  $\text{Fe}^{2+}$  del hemo. Se ha sugerido que la cercanía de la histidina distal estabiliza al  $\text{O}_2$  en la sexta posición, lo que resulta en una afinidad muy alta por este elemento, la más alta que se conoce dentro del grupo de las globinas. Por ejemplo, la afinidad de Hb1 del arroz por el  $\text{O}_2$  es 78 y 1,384 veces mayor que la Lba de la soya y la mioglobina (Mb) del esperma de ballena, respectivamente (Tabla I). La alta afinidad de las Hbs no simbióticas por el  $\text{O}_2$  ha llevado a pensar que la función de estas proteínas en los tejidos de las plantas es distinta al transporte de  $\text{O}_2$  (9, 13).

### FUNCIÓN DE LAS HEMOGLOBINAS NO SIMBIÓTICAS

El estudio de las características bioquímicas de las Hbs no simbióticas, y la expresión de los genes que



**Figura 2.** Espectros de absorción de (A) una Hb simbiótica, la Lba de la soya (2), y (B) de una Hb no simbiótica, la Hb1 del arroz (9), en las formas oxigenada (—), ferrosa desoxigenada (—) y férrica (· · ·). A la izquierda de los espectros se muestra el estado de coordinación del Fe cuando la Hb se encuentra en la forma desoxigenada.

TABLA I

CONSTANTES DE AFINIDAD DE ALGUNAS Hbs VEGETALES POR O <sub>2</sub>			
PROTEÍNA	k on <sup>a</sup> ( $\mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ )	k off <sup>b</sup> (s <sup>-1</sup> )	K <sup>c</sup> ( $\mu\text{M}^{-1}$ )
<u>Hbs no simbióticas</u>			
Hb1 del arroz	68	0.038	1,800
Hb de la cebada	2.4	0.028	86
aHb1 de <i>Arabidopsis</i>	74	0.12	617
<u>Hbs simbióticas</u>			
Lba de la soya	130	5.6	23
aHb2 de <i>Arabidopsis</i>	1	0.14	7
<u>Hbs animales</u>			
Mb del esperma de ballena	14	11	1.3

Tomado de 13. Las constantes de la Mb del esperma de ballena (14) se incluyeron como referencia.

k on<sup>a</sup>, constante de asociación (afinidad con la cual el O<sub>2</sub> se une al Fe<sup>2+</sup>); k off<sup>b</sup>, constante de disociación (afinidad con la cual el Fe<sup>2+</sup> libera el O<sub>2</sub>); K<sup>c</sup>, constante de afinidad (k on/k off)

las codifican, han permitido sugerir cual es la función de estas proteínas en las plantas (10, 13). En la Figura 3 se presenta un esquema general que ilustra las posibles funciones de las Hbs no simbióticas, las cuales se describen a continuación.

(i) Las Hbs no simbióticas podrían actuar como sensores de la concentración de O<sub>2</sub> en las células de la planta, de tal manera que las Hbs no simbióticas se encontrarían en la forma desoxigenada al disminuir la concentración de O<sub>2</sub> en la célula, lo que constituiría una señal para iniciar la respuesta anaeróbica. Sin embargo, dadas las constantes de disociación de las Hbs no simbióticas, las cuales son extraordinariamente bajas (Tabla I), la Hb podría estar oxigenada aun cuando la presión de O<sub>2</sub> sea insuficiente, y así mantener la respiración aeróbica (Fig 3, ruta I).

(ii) Las Hbs no simbióticas funcionan como transportadores de O<sub>2</sub> en los tejidos en donde se sintetizan. Sin embargo, para que las Hbs puedan actuar como transportadores de O<sub>2</sub> se requiere que la concentración de Hb exceda la concentración de O<sub>2</sub> en la célula. Por ejemplo, en los nódulos de

*Parasponia* la concentración de Hb es 100  $\mu\text{M}$  y la concentración de O<sub>2</sub> es 100 nM (2), es decir, que la concentración de Hb excede en tres órdenes de magnitud a la concentración de O<sub>2</sub>. En cambio, en los tejidos vegetales la concentración de las Hbs no simbióticas es muy baja, del orden de 100 nM, mientras que la concentración de O<sub>2</sub> en la raíz es aproximadamente de 1.4  $\mu\text{M}$  (2). Por lo tanto, es poco probable que en estos tejidos las Hbs no simbióticas funcionen como acarreadores de O<sub>2</sub>. Sin embargo, en el tallo de plantas de soya se detectaron concentraciones elevadas de transcritos para Hbs no simbióticas (7). En esos tejidos el metabolismo es especialmente activo debido al transporte de metabolitos y, por lo tanto, el O<sub>2</sub> se consume rápidamente. Por ello se ha propuesto que, bajo esas condiciones, la Hb no simbiótica de la soya podría transportar el O<sub>2</sub> hacia las mitocondrias para mantener el metabolismo aerobio y la síntesis de ATP (Fig 3, ruta II).

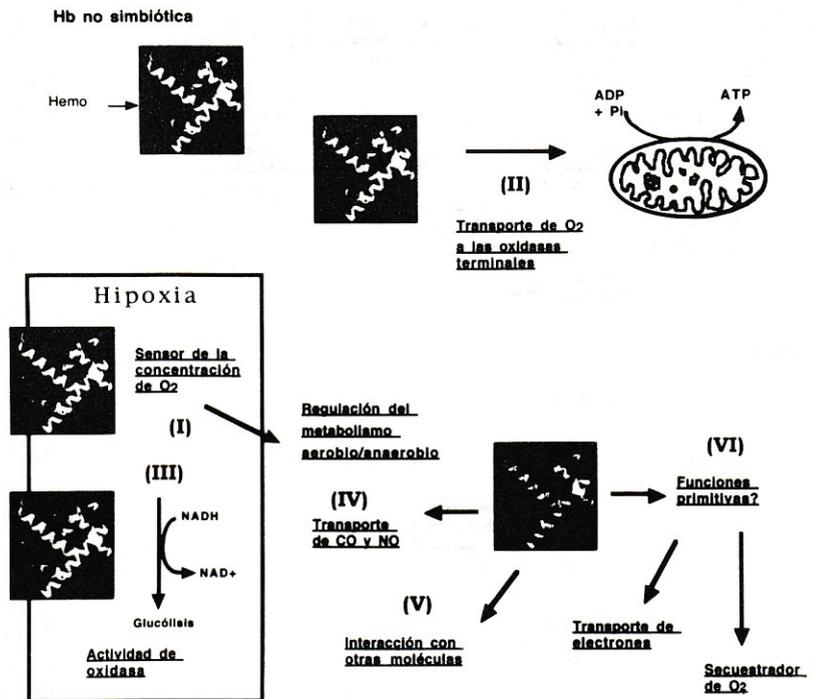
(iii) La expresión de los genes *hb* aumenta en la aleurona de las semillas de la cebada cuando los tejidos se someten a condiciones de hipoxia (8). A partir de estas evidencias se sugirió que las Hbs no

simbióticas juegan un papel importante en la respuesta de la planta a condiciones de microaerobiosis. De manera similar, la expresión de *hb* se incrementa cuando la síntesis de ATP se inactiva, lo que condujo a sugerir que las Hbs no simbióticas podrían participar en el mantenimiento del nivel energético de las células. Es decir, cuando las células se encuentran en condiciones anaeróbicas la Hb oxida el NADH y genera NAD<sup>+</sup>, el cual es necesario para mantener la glucólisis y los niveles adecuados de ATP (10) (Fig 3, ruta III).

(iv) Recientemente se obtuvieron evidencias que sugieren que las Hbs de diversos organismos tienen funciones adicionales al transporte de O<sub>2</sub>, tales como: a) el transporte de óxido nítrico, NO, y monóxido de carbono, CO (Fig 3, ruta IV); b) la interacción con otras moléculas, lo que resultaría en la modificación de las constantes de afinidad por los ligandos, lo que afectaría directamente su función (Fig 3, ruta V); y c) debido a su alta afinidad por el O<sub>2</sub>, las Hbs no simbióticas podrían conservar algunas funciones primigenias, como el transporte de electrones y el secuestro (“scavenging”) del O<sub>2</sub> (Fig 3, ruta VI), lo cual pudo suceder previo al advenimiento de la atmósfera oxidante en la Tierra primitiva.

### EVOLUCIÓN DE LAS HEMOGLOBINAS VEGETALES

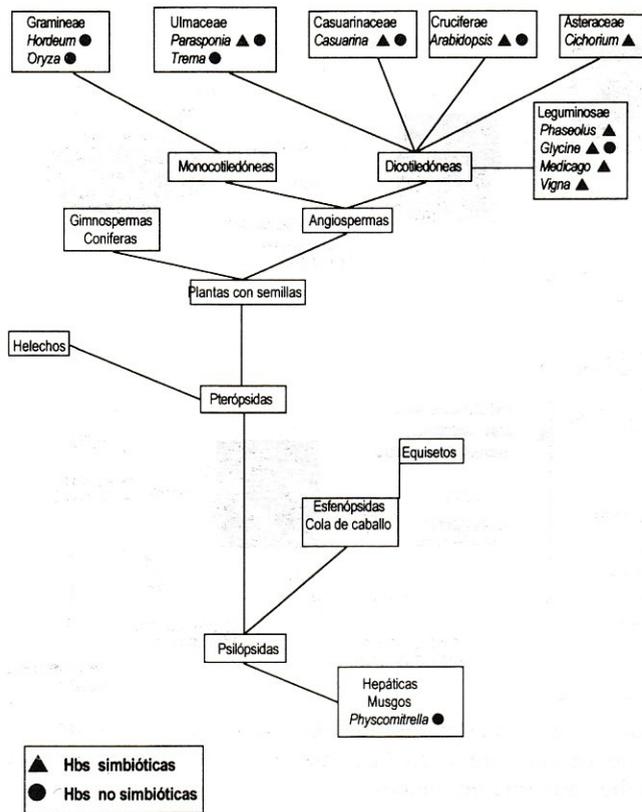
La existencia de Hbs en plantas primitivas, como es el caso de la briofita *Physcomitrella patens*, y en especies monocotiledóneas y dicotiledóneas (Fig 4), indica que las Hbs se distribuyen ampliamente en el reino Plantae, lo cual sugiere que las Hbs vegetales evolucionaron a partir de un ancestro común. Con base en el análisis de la estructura genética y la estructura terciaria de las Hbs, se ha propuesto que el origen de estas proteínas se remonta a un periodo anterior a la divergencia entre los animales y las plantas (15). Las unidades monoméricas de diversas Hbs, incluyendo a las Hbs vegetales y animales, se pliegan en la estructura del tipo globina, la cual está altamente conservada. Más aún, se conoce la secuencia de los genes *hb*



**Figura 3.** Esquema que muestra las posibles funciones de las Hbs no simbióticas en las células vegetales (modificado de 13). En el texto se explica con detalle cada ruta del modelo.

de diversas especies mono y dicotiledóneas. Los genes *hb* de plantas tienen tres intrones, IVS-I, IVS-II e IVS-III, que se localizan en posiciones muy conservadas, lo cual sugiere que el gen *hb* ancestral de las angiospermas tenía la estructura 4 exones/3 intrones; los intrones IVS-I e IVS-III de los genes *hb* vegetales se localizan en la misma posición que los intrones del gen de la Mb del espermatozoide de ballena. Estas evidencias sugieren que las Hbs vegetales y animales evolucionaron a partir de un ancestro común hace más de 1,500 millones de años.

Las Hbs no simbióticas están ampliamente distribuidas en las plantas, en tanto que muchas Hbs simbióticas están restringidas a los nódulos de las plantas fijadoras de N<sub>2</sub> y existen solamente en los grupos más evolucionados de las plantas dicotiledóneas (Fig 4). Al parecer, las Hbs simbióticas de los nódulos de las plantas fijadoras de N<sub>2</sub> surgieron a partir de la duplicación de un gen *hb* no simbiótico, en donde una de las copias fue secuestrada para llevar a cabo una función específica en los nódulos (2). A partir de ese momento los dos tipos de Hbs vegetales evolucionaron independientemente con funciones diferentes.



**Figura 4.** Distribución de las Hbs simbióticas y no simbióticas en las plantas terrestres.

## AGRADECIMIENTOS

El trabajo que se lleva a cabo en el laboratorio de los autores está financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (proyecto número 25229-N).

## REFERENCIAS

1. Trevasakis B, Watts R A, Andersson S R, Llewellyn D J, Hargrove M S, Olson J S, Dennis E S y Peacock W J (1997) Two hemoglobin genes in *Arabidopsis thaliana*: The evolutionary origins of leghemoglobins. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:12230-12234.
2. Appleby C A (1992) The origin and functions of haemoglobin in plants. *Sci Progr* 76:365-398.
3. Kubo H (1939) Uber hamoprotein aus den wurzelknollchen von leguminosen. *Acta Phytochim* (Tokyo) 11:195-200.
4. Appleby C A, Tjepkema J D y Trinick M J (1983) Hemoglobin in a nonleguminous plant *Parasponia*: possible genetic origin and function in nitrogen fixation. *Science* 220:951-953.
5. Hendriks T, Scheer I, Quillet M C, Randoux B, Delbreil B, Vasseur J y Hilbert J L (1998) A nonsymbiotic hemoglobin gene is expressed during somatic embryogenesis in *Cichorium*. *Biochim Biophys Acta* 1443:193-197.
6. Bogusz D, Appleby C A, Dennis E S y Trinick W J (1988) Functioning haemoglobin genes in non-nodulating plants. *Nature* 331:178-180.
7. Andersson C R, Jensen E O, Llewellyn D J, Dennis E S y Peacock W J (1996) A new hemoglobin gene from soybean: a role for hemoglobin in all plants. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:5682-5687.
8. Taylor E R, Nie X Z, MacGregor A W y Hill R D (1994) A cereal haemoglobin gene is expressed in seed and root tissues under anaerobic conditions. *Plant Mol Biol* 24:853-862.
9. Arredondo-Peter R, Hargrove M S, Sarath G, Moran J F, Lohrman J, Olson J S y Klucas R V (1997) Rice hemoglobins: gene cloning, analysis and oxygen-binding kinetics of a recombinant protein synthesized in *Escherichia coli*. *Plant Physiol* 115:1259-1266.
10. Hill R D (1998) What are hemoglobins doing in plants? *Can J Microbiol* 76:707-712.
11. Arredondo-Peter R, Moran J F, Sarath G, Luan P y Klucas R V (1997) Molecular cloning of the cowpea (*Vigna unguiculata*) leghemoglobin II gene and expression of its cDNA in *Escherichia coli*; purification and characterization of the recombinant protein. *Plant Physiol* 114:493-500.
12. Hargrove M S, Barry J K, Brucker E A, Berry M B, Phillips G N, Olson J S, Arredondo-Peter R, Dean J M, Klucas R V y Sarath G (1997) Characterization of recombinant soybean leghemoglobin *a* and apolar distal histidine mutants. *J Mol Biol* 267:1032-1042.
13. Arredondo-Peter R, Hargrove M S, Moran J F, Sarath G y Klucas R V (1998) Plant Hemoglobins. *Plant Physiol* 118:1121-1126.
14. Springer B A y Sligar S G (1987) High-level expression of sperm whale myoglobin in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:8961-8965.
15. Hardisson R (1998) Hemoglobins from bacteria to man: evolution of different patterns of gene expression. *J Exp Biol* 201:1099-1117.

# LOS FLAVONOIDES, ANTIOXIDANTES NATURALES

María Boffill Cárdenas. Departamento de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Médicas del Instituto Superior de Ciencias Médicas de Villa Clara. Santa Clara, Villa Clara. Cuba. Correo electrónico: boffill@capiro.vcl.sld.cu

## RESUMEN

Los flavonoides son compuestos polifenólicos distribuidos ampliamente en las plantas superiores y forman parte de la dieta. En la actualidad hay un gran interés en el estudio de la eficacia de estos compuestos como agentes terapéuticos naturales preventivos por su potencial antioxidante. Aunque se ha reportado que la acción antioxidante depende de la presencia de sus grupos hidroxilo y que la misma puede ocurrir inhibiendo oxidasas, quelando iones metálicos de transición o removiendo radicales libres recién formados, el mecanismo de su acción *in vivo* aún no es bien conocido. Se requiere continuar realizando estudios para conocer la absorción y el metabolismo, así como la relación estructura-actividad biológica de estos importantes compuestos.

**PALABRAS CLAVE:** Flavonoides, antioxidantes, radicales libres.

## ABSTRACT

Flavonoids are polyphenolic compounds widely distributed in higher plants and are part of the diet. Presently, there is an increasing interest in the study of the efficacy of these compounds as natural therapeutical ones because of their antioxidant potential. Although it has been reported that the antioxidant effect depends upon the presence of their hydroxyl groups and it can occur by means of oxidases inhibition, chelating transition metallic ions, or from scavenging of free radicals recently formed, the mechanism of its action *in vivo* is not well known yet. Further studies are required to establish their absorption and metabolism, as well as structure-biological activity relation of these important compounds.

**KEY WORDS:** Flavonoids, antioxidants, free radicals.

## INTRODUCCIÓN

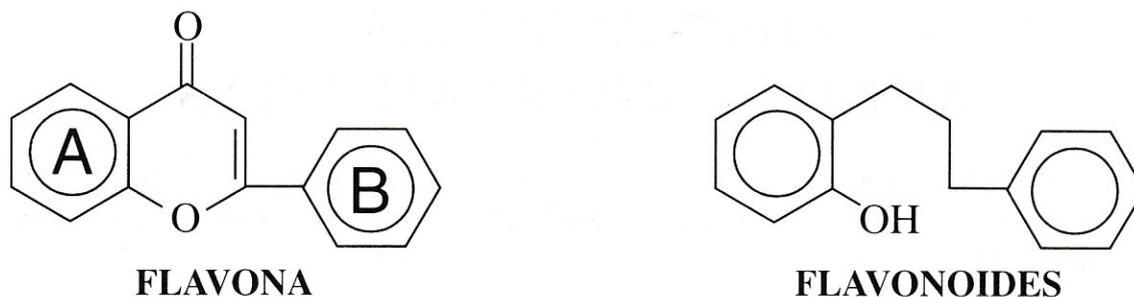
Los flavonoides son compuestos polifenólicos, que se encuentran en los vegetales, frutas y en determinadas bebidas como el té y el vino rojo y que poseen actividad antioxidante. Al igual que las vitaminas A, C y E estos compuestos evitan la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y presentan un efecto protector sobre el estrés oxidativo que se origina, cuando por alguna razón, hay un aumento de la producción de radicales libres y son insuficientes las defensas antioxidantes del organismo.

En la actualidad hay un gran interés en el estudio de la eficacia de estos compuestos como agentes terapéuticos naturales preventivos por su potencial antioxidante. Por lo cual, se evalúa su efectividad mediante estudios experimentales y epidemiológicos. Numerosos trabajos de investigación epidemiológica se han realizado para valorar la ingestión de frutas, vegetales, té y vino rojo y su relación con enfermedades asociadas al estrés oxidativo como la aterosclerosis, cardiopatías isquémicas y cáncer (1-3).

Los resultados obtenidos con estos estudios, con la mercadotecnia y con la publicidad se han elevado a estos compuestos a la categoría de medicamentos mágicos; sin embargo, aún no está bien establecido el mecanismo de la absorción intestinal, su metabolismo y los niveles óptimos de consumo de los alimentos ricos en flavonoides.

## ¿QUÉ ES UN FLAVONOIDE?

Los flavonoides son compuestos polifenólicos que están presentes en los vegetales, en donde se han encontrado más de 4,000 compuestos diferentes; su estructura básica es una unidad de  $C_6-C_3$ , unida a un anillo aromático. Su nombre se deriva de



**Figura 1.** Estructura general de la flavona y de los flavonoides.

la flavona, compuesto muy abundante en la naturaleza, cuya estructura química se presenta en la Figura 1.

Los flavonoides son pigmentos amarillos, que tienen de 2 a 7 átomos de oxígeno adicionales. Todos los flavonoides, excepto la flavona, son sustancias hidroxiladas y su patrón de hidroxilación da una orientación de sus orígenes e interrelaciones. El gran número de flavonoides presentes en la naturaleza muestra dos patrones diferentes de hidroxilación en sus núcleos aromáticos:

–Hidroxilación en el anillo A en las posiciones 5; 5,7 ó 5,7,9 (el grupo hidroxilo de la posición 9 se encuentra en la flavona y en la mayoría de los flavonoides formando un anillo con la unidad de 3 C).

–Hidroxilación del anillo B en las posiciones 4';3',4' ó 3',4',5'.

Otra diferencia estructural es el grado de oxidación de la unidad de 3 carbonos que une los anillos A y B, a partir de los cuales se clasifican en:

- Flavonoles
- Auronas
- Flavonoles
- Catequinas
- Flavanonas
- Antocianinas
- Leucoantocianidinas
- Chalconas

Los flavonoides presentan una variedad de efectos biológicos, de los cuales son responsables los grupos hidroxilo presentes en su estructura (2).

Entre los derivados más simples se encuentran la crisina (presente en las yemas de álamo) que es la 5,7 -dihidroxi-flavona y la apigenina (presente en el perejil) que es la 5,7,4'-trihidroxi-flavona y la buteina que es el derivado 7,9,4',5'-tetrahidroxi-flavona, cuyas estructuras aparecen en la Figura 2. Los flavonoides más abundantes en los alimentos son la quercitina y el kamferol, cuyas fuentes fundamentales son el té y la cebolla (4). Las estructuras de dichos flavonoides se muestran en la Figura 3.

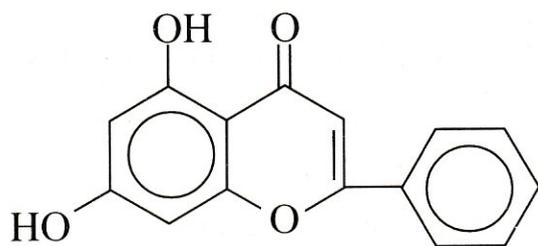
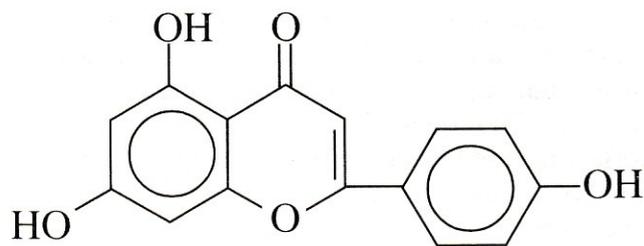
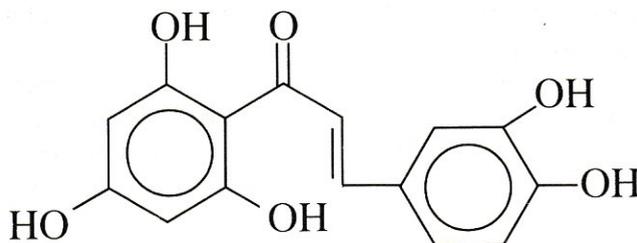
Los flavonoides se encuentran en la naturaleza como compuestos hidroxilados libres, ésteres metílicos o metilénicos y como glucósidos en forma de  $\beta$ -glicósido (5), que es la forma más abundante de aparición.

### LOS FLAVONOIDES COMO ANTIOXIDANTES

En individuos saludables, el sistema antioxidante defiende a los tejidos contra los ataques de los radicales libres. Hay 3 clases de antioxidantes:

–Antioxidantes primarios, que previenen la formación de nuevas especies de radicales libres, entre los que se encuentran la superóxido dismutasa, la glutatión peroxidasa, la ceruloplasmina, la transferrina y la ferritina, compuestos todos endógenos, que cuando disminuyen sus concentraciones a nivel celular, puede producirse el incremento de los radicales libres.

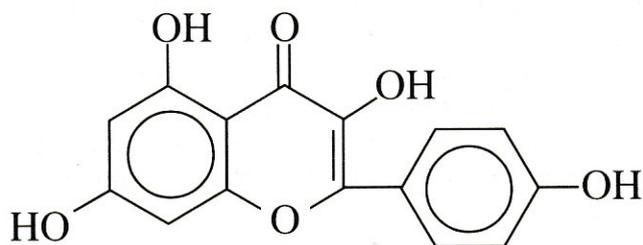
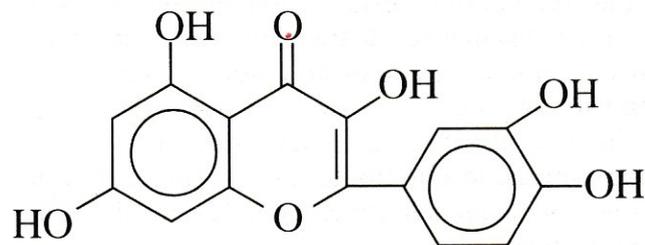
–Antioxidantes secundarios, son los que remueven los radicales libres de las células antes de que ellos puedan iniciar la cadena de reacciones, son de este tipo la vitaminas E y C, el  $\beta$ -caroteno, el ácido úrico, la bilirubina, la albúmina y los flavonoides.

**CRISINA****APIGENINA****BUTEINA****Figura 2.** Estructuras de algunos flavonoides.

–Antioxidantes terciarios, son aquellos que reparan los daños provocados en las estructuras celulares por los radicales libres tales como las enzimas reparadoras del DNA y la metionina sulfoxido reductasa.

La clasificación de los antioxidantes en cuanto a su acción directa no es absoluta, pues es posible encontrar un mismo compuesto que manifieste su acción por más de una vía. Se ha reportado que los flavonoides catequina C, epicatequina, epigalocatequina y epicatequina galato son capaces de inhibir la xantina oxidasa hepática que produce ácido úrico y especies reactivas de oxígeno durante el catabolismo de las puri-

nas. La inhibición que producen estos compuestos sobre esta enzima es no competitiva para la catequina C, mixta para la epicatequina, y epicatequina galato y competitiva para la epigalocatequina galato (6). La diferencia en la forma de inhibir la xantina oxidasa por estos compuestos, que tienen estructuras relacionadas, pone en evidencia los mecanismos diferenciales mediante los cuales los flavonoides manifiestan su acción antioxidante. Además, en este caso, el efecto antioxidante se produce mediante la inhibición enzimática, con lo que se evita la producción de los radicales libres, lo cual ubica a estos compuestos de una forma indirecta como antioxidantes primarios.

**KAMFEROL****QUERCITINA****Figura 3.** Estructura de los 2 flavonoides más abundantes en los alimentos.

Una serie de flavonoides aislados de plantas medicinales tales como el kamferol-3-O-galactosido, la hispidulina, la nepetina, la escutelareina, la escutelareina-7-O-glucurónido, la hibifolina y la moreloflavona, inhiben la peroxidación lipídica *in vitro*. El flavonoide más activo en inhibir esta peroxidación por la vía no enzimática fue la nepetina, y por la vía enzimática, la moreloflavona. La mayoría de estos compuestos remueven el radical hidroxilo producido en la degradación de la desoxirribosa (7). Al estudiar los efectos que la quercitina purificada puede ejercer sobre la eliminación de los aniones superóxido se demuestra que la misma es efectiva en disminuir el de óxido nítrico (NO) producido por los radicales libres durante la isquemia global y la perfusión en la corteza cerebral (8).

Otra forma de actuar de los flavonoides como antioxidantes es mediante la quelación de los iones de los metales de transición. Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) pueden ser oxidadas al incubarse con células en cultivo o en un sistema libre de células, al cual se le ha añadido iones metálicos de transición como el cobre y el hierro, lo cual conduce a una oxidación casi completa de los ácidos grasos poliinsaturados a peróxidos lipídicos.

En estudios *in vitro* se ha demostrado que los flavonoides quercitina, rutina, kamferol, flavanol, y catequina interactúan con el Cu (II) y el Fe (III) y con una exposición prolongada la quercitina interactúa con el Mn (II) (9). También se ha observado que el extracto metanólico de cerezas, que contiene ocho compuestos polifenólicos, inhibe la peroxidación lipídica inducida por 25 ppm de iones Fe (II), en donde el 7-dimetil-5,8,4'-trihidroxi-flavona es el más activo, seguido de la quercitina-3-ramnósido, la genisteina, el ácido chorogénico y de la naringenina (10). Sin embargo, no se sabe cuán relevante es esta acción *in vivo*, pues los iones de los metales de transición no están libres a nivel celular, ya que están unidos a proteínas de transporte y de almacenamiento tales como la ferritina, la transferrina, la hemosiderina y la ceruloplasmina, lo que limita las reacciones de estos iones en cuanto a la generación de radicales libres de oxígeno.

Aunque el mecanismo de la actividad antioxidante de los flavonoides ha sido grandemente es-

tudiado en la última década, hay aún mucha confusión acerca del mecanismo molecular mediante el cual estos compuestos eliminan los radicales libres y la relación entre su estructura y actividad biológica.

Por medio del cálculo del calor de formación y la geometría de los flavonoides solo y unido a radicales, se llega a la conclusión de que la buena actividad antioxidante de los flavonoides podría ser explicada por la formación de un puente de hidrógeno intramolecular (11).

En resumen, se puede plantear que el efecto antioxidante de los flavonoides puede ser atribuido al alto número de grupos hidroxilo presentes en su molécula los cuales interviene en la:

-Eliminación de los radicales libres y otros intermediarios oxidados como lípidos y proteínas derivados de la acción de los radicales libres.

-Quelación de los iones Fe (III) y Cu (II) libres.

-Inhibición de oxidasas y lipoxigenasas que evitan la formación de leucotrienos (12).

## ABSORCIÓN Y METABOLISMO DE LOS FLAVONOIDES

La magnitud de la absorción de los flavonoides es un importante problema a resolver para juzgar sus efectos beneficiosos. Los flavonoides presentes en los alimentos fueron considerados como no absorbibles, debido a su unión con los azúcares como beta-glicósidos, por lo que se consideraba que sólo flavonoides libres (agliconas) eran capaces de pasar a través de la pared intestinal. La hidrólisis de estos compuestos solamente ocurre en el colon por los microorganismos de la flora intestinal, los cuales al mismo tiempo degradan a los flavonoides. No obstante, se ha demostrado que los glicósidos de la quercitina provenientes de la cebolla fueron absorbidos mejor que su aglicona pura. Los estudios farmacocinéticos con los glicósidos de la quercitina mostraron marcada diferencia en la velocidad de absorción y en la biodisponibilidad. La quercitina absorbida fue lentamente eliminada de la sangre.

El metabolismo de los flavonoides ha sido estudiado en varios modelos animales, pero se disponen de muy pocos datos en el humano. Hay dos

sitios principales de metabolismo de estos compuestos, uno es el hígado y el otro es en el colon, por la acción de los microorganismos presentes en el mismo. Hay evidencia que en el hígado, se producen reacciones de metilación, sulfatación y glucuronidación de los grupos hidroxilo, mientras que la destrucción de los anillos de los flavonoides ocurre en el colon (2).

Se ha estudiado el efecto de los productos de la degradación intestinal de la rutina, la hesperidina, la naringenina y la poncirina a sus respectivas agliconas, las que manifestaron mayor efecto biológico que cuando son administrados parenteralmente (13). Esto sugiere que hay verdaderos mecanismos específicos de transporte intestinal de los glicósidos que conducen a una mayor absorción o que los productos de su degradación intestinal, retienen las actividades biológicas de los flavonoides.

### **ASOCIACIÓN ENTRE LA DIETA RICA EN FLAVONOIDES Y EL RIESGO DE LAS ENFERMEDADES CRÓNICAS**

La asociación, entre la ingestión de frutas, vegetales y otras bebidas ricas en flavonoides y el riesgo de padecer una enfermedad crónica como el cáncer, la aterosclerosis y las enfermedades cardiovasculares, ha sido ampliamente estudiada mediante estudios epidemiológicos, en donde se ha tratado de establecer el contenido de los flavonoides en las frutas y vegetales como un indicador de la ingesta de los alimentos, que son necesarios, para suministrar la cantidad de antioxidantes naturales. Como consecuencia, se ha determinado las siguientes equivalencias: 1 vaso (150 ml) de vino rojo equivale a 12 vasos de vino blanco y a 2 tazas de té, a 4 manzanas, a 5 cebollas, a 7 vasos de jugo de naranja y a 20 vasos de jugo de manzanas (13).

Estos indicadores ponen de manifiesto la gran diversidad del contenido de los flavonoides en los alimentos, lo cual representa un problema para usarlos como compuestos antioxidantes, más aún, si se tiene en cuenta que su contenido en los vegetales se modifica con la variedad, clima y condiciones de cultivo. Además, no se tienen los suficientes datos en cuanto a la absorción y biodisponibilidad de todos estos compuestos, ya que ello depende de su gran diversidad estructural, lo

que hace aún más difícil el establecer las cantidades óptimas de los diferentes alimentos de la dieta, que permita satisfacer las necesidades de antioxidantes.

Esta situación ha motivado que se trabaje arduamente en establecer biomarcadores que distingan entre el alto y el bajo contenido de los flavonoides en los fluidos corporales después del consumo de diversos alimentos ricos en estos compuestos. La determinación de la quercitina y el kamferol en el plasma y en la orina, se ha utilizado como biomarcadores eficientes de la absorción y biodisponibilidad de los mismos, y se ha demostrado que hay diferencias marcadas en cuanto al tipo de alimento ingerido (4).

Aunque hay considerable evidencia de la actividad antioxidante de los flavonoides presentes en la dieta *in vitro* hay pocos estudios en humanos que establezcan su absorción y biodisponibilidad y su efecto antioxidante *in vivo* es aún poco conocido. Por ejemplo, estudios con bebidas tales como el vino rojo, que es rico en compuestos polifenólicos han conducido a resultados en los cuales se puede considerar que el efecto final, puede ser un balance entre el bien descrito efecto prooxidante del alcohol y el efecto antioxidante de los polifenoles (14).

Es importante además, tener en cuenta que la actividad biológica de los flavonoides es dependiente de su estructura. Existe por lo tanto, una respuesta variada en dependencia de la misma y también de la dosis empleada, pues se ha comprobado, que la utilización de altas concentraciones de los flavonoides puede no ser favorable (15).

Queda entonces abierta la pregunta de cómo utilizar a los flavonoides como agentes quimoprotectores naturales, que garanticen el nivel óptimo para prevenir las enfermedades crónicas, cuya respuesta hay que encontrarla en estudios experimentales *in vivo* y con humanos, lo que justifica que en la actualidad se continúen realizando un gran número de trabajos experimentales que permitirán profundizar en el mecanismo de la absorción y en el metabolismo de estos compuestos, así como la relación entre su estructura y actividad biológica.

## REFERENCIAS

1. Serdula M K, Byers T, Mokdad A H, Simones E, Mendlein J M y Coates R J (1996) The association between fruit and vegetable intake and chronic disease risk factors. *Epidemiol* 7:161-165.
2. Hollman P C y Katan M B (1997) Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. *Biomed Pharmacother* 51:305-310.
3. Paganga G, Miller N y Rice-Evans CA (1999) The polyphenolic content of fruit and vegetables and their antioxidant activities. What does a serving constitute? *Free Radic Res* 30:153-162.
4. De Vries J H, Hollman P C, Mey Boom S, Buysman M M, Zocok P L, Van Staveren W A y Katan M B (1998) Plasma concentrations and urinary excretion of the antioxidant flavonols quercetin and kaempferol as biomarkers for dietary intake. *Am J Clin Nutr* 68:60-65.
5. Hollman P C y Katan M B (1998) Bioavailability and health effects of dietary flavonols in man. *Arch Toxicol Suppl*, 20:237-248.
6. Rohnert U, Schneider W y Elstner E F (1998) Superoxide-dependent and -independent nitrite formation from hydroxylamine: inhibition by plant extracts. *Z Naturforsch* 53: 241-249.
7. Sanz M J, Ferrandiz M L, Cejudo M, Terencio M C, Gil B, Bustos G, Ubeda A, Gunassegaran R y Alcaraz M J (1994) Influence of a series of natural flavonoids on free radical generating systems and oxidative stress. *Xenobiotica* 24:689-699.
8. Skutenko Z, Henry Y, Pinard E, Seyloz J, Potler P, Berthet F, Girard P y Sercombe R (1999) Influence of the antioxidant quercetin in vivo on the level of nitric oxide determined by electron paramagnetic resonance in rat brain during global ischemia and perfusion. *Biochem Pharmacol* 57:199-208.
9. Kuo S M, Leavitt P S y Lin C P (1998) Dietary flavonoids interact with trace metal and affect metallothionein level in human intestinal cells. *Biol Trace Elem Res* 62:135-153.
10. Wang H, Nair M G, Strasburg G M, Boonen A M, Gray J I (1999) Antioxidant polyphenols from tart cherries (*Prunus cerasus*). *J Agric Food Chem* 47:840-844.
11. Van Acker S A, De Groot M J, Van den Berg D J, Tromp M N, Donne-Op den Kelder G, Van den Vijgh W J y Bast A (1996) A quantum chemical explanation of the antioxidant activity of flavonoids. *Chem Res Toxicol* 9:1305-1312.
12. De Groot H y Rauhen U (1998) Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids. *Fundam Clin Pharmacol* 12:249-255.
13. Kin D H, Jung E A, Sohng I S, Han J A, Kin H y Han M J (1998) Intestinal bacterial metabolism of flavonoids and its relation to some biological activities. *Arch Pharm Res* 21:17-23.
14. Croft K D (1998) The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acid. *Ann N Y Acad Sci* 854:435-442.
15. Kuo S M (1997) Dietary flavonoid and cancer prevention evidence and potential mechanism. *Crit Rev Oncog* 8:47-69.

# EXPULSIÓN DE ARSENITO Y CROMATO EN BACTERIAS

Carlos Cervantes, Angel H. Alvarez, Martha I. Ramírez y Eréndira Vargas. Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, Universidad Michoacana, Morelia, Mich. Correo electrónico: cvega@zeus.ccu.umich.mx

## RESUMEN

La exposición a aniones inorgánicos tóxicos, como los oxianiones derivados de arsénico y cromo, ha seleccionado bacterias resistentes a estos compuestos. Entre los mecanismos de resistencia más comunes están los sistemas de expulsión de la membrana, que se basan en la disminución de la concentración citoplásmica de los iones por medio de proteínas que los transportan al exterior de las células. Los determinantes de resistencia a derivados de arsénico (operones *ars*) se han caracterizado en plásmidos y cromosomas de varias especies bacterianas. Estos sistemas están constituidos por el transportador ArsB que depende de la ATPasa ArsA, o del potencial de membrana, como fuente de energía para la expulsión del arsenito. El arsenato es primero transformado por la arsenato reductasa ArsC a arsenito, el cual es expulsado por el transportador. En el caso del cromo, se han identificado determinantes plasmídicos (genes *chr*) en bacterias Gram negativas. El sistema de tolerancia de *Pseudomonas* se basa en la proteína de la membrana ChrA, un transportador que expulsa cromato empleando el potencial de la membrana como fuente de energía.

**PALABRAS CLAVE:** expulsión membranal, resistencia a arsenicales, resistencia a cromato.

## ABSTRACT

Exposure to inorganic toxic anions, such as the oxyanions derived from arsenic and chromium, has selected bacteria resistant to them. Among the more common tolerance mechanisms are the membrane efflux systems, which function by lowering cytoplasmic concentrations of inorganic ions using proteins that extrude them from the cells. Determinants conferring resistance to arsenic derivatives (*ars* operons) have been characterized from plasmids and chromosomes of diverse bacterial species. These systems are constituted by the

membrane protein ArsB which depends on the ArsA ATPase, or the membrane potential, as a source of energy for the efflux of arsenite ions. Arsenate is first transformed by the ArsC arsenate reductase to arsenite, which is extruded from the cytoplasm. In the case of chromium, plasmid determinants encoding chromate resistance (*chr* genes) have been identified in Gram negative bacteria. The tolerance system from *Pseudomonas* is based on the membrane protein ChrA, which uses the membrane potential as a source of energy for the extrusion of chromate ions.

**KEY WORDS:** membrane efflux, arsenic resistance, chromate resistance.

## INTRODUCCIÓN

Las bacterias, como los demás organismos vivos, requieren para su funcionamiento adecuado la presencia de ciertos aniones inorgánicos esenciales como sulfato y fosfato. Otros aniones, sin embargo, ejercen efectos nocivos sobre los microorganismos, como los oxianiones derivados de arsénico, cromo, telurio y selenio. Las bacterias no poseen vías específicas de transporte para estos iones tóxicos, pero algunos penetran al citoplasma celular empleando sistemas de la membrana involucrados en el transporte de iones esenciales con propiedades químicas análogas. Ejemplos de esta usurpación de los sistemas de transporte son la entrada del arsenato por el sistema de transporte del fosfato y el ingreso del cromato por la vía del sulfato.

Una vez en el interior de la célula, los iones inorgánicos tóxicos llevan a cabo sus efectos nocivos mediante la interacción con las macromoléculas esenciales del citoplasma bacteriano. Algunas bacterias, sin embargo, han desarrollado mecanismos de resistencia para tolerar la presencia de niveles elevados de ciertos aniones tóxicos.

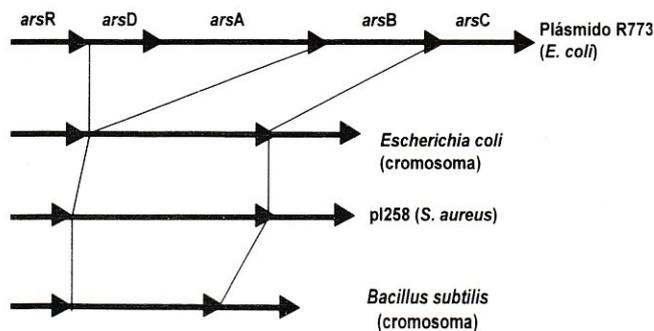
Los genes responsables de estos sistemas de tolerancia pueden estar codificados en el cromosoma bacteriano o en plásmidos (1, 2). En los últimos años se han descrito a nivel molecular los mecanismos de resistencia a derivados de arsénico y cromo (1-4). En esta revisión se resumen los mecanismos bacterianos de expulsión de estos oxianiones.

## EXPULSIÓN DE ARSENITO

El arsénico (As) es un metaloide cuyos derivados son ampliamente reconocidos como compuestos tóxicos para los organismos vivos. La toxicidad del arsénico depende de su estado de oxidación; los estados de valencia más comunes del As son +3 y +5. Los arsenicales trivalentes son considerablemente más tóxicos que los compuestos pentavalentes. El efecto tóxico del arsenito ( $\text{AsO}_2^-$ ), un derivado trivalente, se debe a su unión con los grupos sulfhidrido de las proteínas. El ion pentavalente arsenato ( $\text{AsO}_4^{3-}$ ), por otra parte, debe su toxicidad a la analogía que muestra con el ion esencial fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), causando inhibición competitiva del transporte de fosfato y alterando las actividades de fosforilación enzimática. El principal mecanismo bacteriano de resistencia a derivados de arsénico se basa en sistemas de expulsión de arsenito codificados por los denominados operones *ars* (1, 4). Estos sistemas también expulsan el oxianión antimonito ( $\text{SbO}_2^-$ ), derivado de la forma trivalente del antimonio que comparte propiedades químicas con el arsenito (4). La Tabla I muestra las características de los productos génicos de los operones *ars*.

## Mecanismos de expulsión de arsenito

**a) Sistema *ars* plasmídico de *Escherichia coli*.** El operón *ars* localizado en el plásmido R773 de *Escherichia coli* consta de cinco genes, *arsRDABC* (5) (Fig 1). El operón es regulado por los genes *arsR* y *arsD*. ArsR es una proteína de 117 aminoácidos (aa) que se une en forma dimérica a la región operador/promotor del operón impidiendo la transcripción de los genes *ars*. En presencia del inductor (arsenito o antimonito), ArsR se separa del DNA permitiendo la transcripción del operón. El gen *arsD* codifica la proteína reguladora ArsD cuya función es controlar la expresión de los genes *ars* de manera independiente del inductor (4). ArsD se une al promotor en una región cercana a donde se une el represor ArsR, aunque con una afinidad mucho menor que éste;



**Figura 1.** Organización genética de los operones *ars* de los plásmidos R773 de *Escherichia coli* y p1258 de *Staphylococcus aureus* y de los operones *ars* cromosómicos de *E. coli* y *Bacillus subtilis*. Se muestran los distintos genes *ars* en el orden y dirección (flechas) de la transcripción y aproximadamente a escala. Adaptada de la referencia 11.

TABLA I

### COMPONENTES DE LOS SISTEMAS DE EXPULSIÓN *ars*

PROTEÍNA	FUNCIÓN	CODIFICADO EN <sup>a</sup>
ArsA	ATPasa que energiza el sistema de expulsión	P
ArsB	Transportador de la membrana interna que expulsa arsenito	P, C
ArsC	Arsenato reductasa que transforma el arsenato en arsenito	P, C
ArsR	Regulador de la expresión del operón	P, C
ArsD	Regulador secundario de la expresión del operón	P

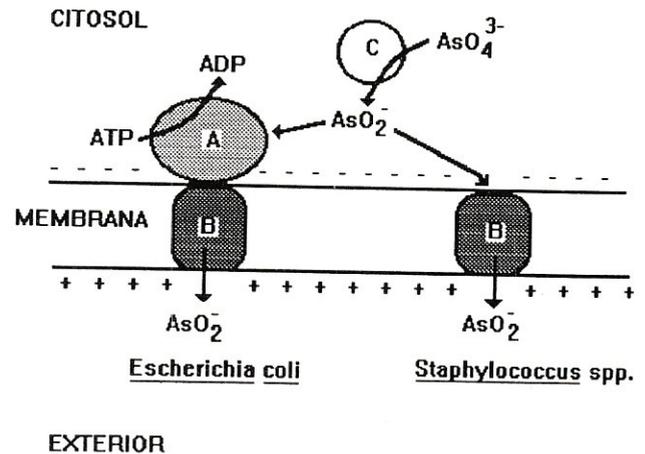
<sup>a</sup>, P, plásmido; C, cromosoma.

ambas proteínas controlan los niveles de expresión del operón *ars*.

El gen *arsA* codifica la proteína ArsA de 583 aminoácidos que tiene actividad de ATPasa (6). ArsA presenta similitud con otras proteínas que unen ATP en las regiones donde se une el nucleótido pero no en el resto de la proteína. La ATPasa es estimulada por arsenito y antimonito y forma un dímero que se piensa que es la forma activa. ArsA expulsa arsenito y antimonito pero no es capaz de expulsar arsenato. El motivo GKGG VGKTS, que constituye el sitio de unión del ATP, se encuentra repetido en los extremos amino y carboxilo y es esencial para la actividad de expulsión. Se ha encontrado similitud estructural entre la ATPasa ArsA y una ATPasa de mamíferos (la glicoproteína P) involucrada en la resistencia múltiple a drogas. Esta última expulsa compuestos orgánicos del citoplasma y es particularmente importante en células tumorales a las cuales vuelve resistentes a drogas anticancerosas (7).

El gen *arsB* codifica una proteína integral de la membrana, ArsB, que posee 429 aa y 12 segmentos transmembranales y sirve de anclaje para la proteína ArsA. ArsB funciona en la translocación de iones en la membrana, energizado por ArsA mediante la hidrólisis del ATP (Fig 2). El complejo ArsA-ArsB muestra valores de  $K_m$  de 2 mM para ATP y de 0.1 mM para arsenito. La  $K_m$  de arsenito es similar cuando ArsB se expresa en mutantes carentes de la ATPasa ArsA, condición en la que la expulsión del arsenito es energizada por el potencial de membrana. La proteína ArsC, codificada por el gen *arsC*, es un polipéptido soluble de 141 aa que actúa como arsenato reductasa, es decir, lleva a cabo la reducción de arsenato a arsenito (8). El único sustrato de ArsC es arsenato ( $K_m = 8$  mM), mientras que otros oxianiones como sulfato o fosfato son inhibidores débiles de la reducción. Por otra parte, el producto, arsenito, inhibe fuertemente la reacción ( $K_i = 0.1$  mM). Así, el arsenato es primero convertido en arsenito para que este sea después expulsado por la ATPasa (Fig 2).

**b) Sistema *ars* plasmídico de *Staphylococcus*.** Los operones *ars* de los plásmidos de *Staphylococcus aureus* y *S. xylosum* pl258 y pSX267, respectivamente, sólo contienen los genes *arsRBC* y



**Figura 2.** Mecanismo de resistencia a compuestos de arsénico codificado por los operones *ars* de *Escherichia coli* y de *Staphylococcus aureus*. Se muestra la transformación de arsenato a arsenito por la arsenato reductasa (C). En el sistema de *E. coli*, el arsenito es eliminado de la célula por el complejo ArsA-ArsB, que funciona como una bomba de expulsión formada por la ATPasa (A) y el transportador de la membrana (B). En el sistema de *S. aureus*, el arsenito es expulsado por el transportador (B) utilizando el potencial de membrana como fuente de energía. Adaptado de la referencia 4.

carecen del gen para la ATPasa (ArsA) (9) (Fig 1). Estos operones son también regulados por el represor ArsR, una proteína de 104 aa con 30% de similitud a ArsR, de 117 aa, de *E. coli* (Tabla II). El gen *arsB* de *S. aureus* codifica una proteína que presenta 59% de identidad con la proteína ArsB del plásmido R773 de *E. coli* (9) (Tabla II). ArsB confiere resistencia a arsenito y antimonito aun en ausencia de la ATPasa, utilizando como fuente de energía el potencial de membrana (Fig 2). Cuando se expresa el gen de la ATPasa ArsA de *E. coli* en *S. aureus*, se observa un aumento en la expulsión de arsenito, lo que indica que la proteína ArsB de *Staphylococcus* es capaz de asociarse con la ATPasa de *E. coli*. Aunque las proteínas ArsC de *E. coli* y de *S. aureus* muestran una similitud de sólo 18% (Tabla II), ambas pueden reducir arsenato a arsenito (8). Como cofactores de la reducción, la enzima de *S. aureus* se acopla con tiorredoxina, mientras que la reductasa de *E. coli* lo hace con glutarredoxina.

**c) Sistemas *ars* cromosómicos.** Las cepas de *E. coli* sensibles a arsenito que no tienen plásmidos son más resistentes que las cepas de *S. aureus* sin plásmidos, requiriendo concentraciones 5 a 10 veces más altas de estos iones para producir el mis-

TABLA II

COMPARACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE LOS GENES *ars* DE DIFERENTE ORIGEN

OPERÓN <i>ars</i>	<i>arsR</i>	<i>arsD</i>	<i>arsA</i>	<i>arsB</i>	<i>arsC</i>
Plásmido R773 ( <i>E. coli</i> )	117 (100) <sup>a</sup>	120 (100)	583 (100)	429 (100)	141 (100)
<i>E. coli</i> (cromosoma)	117 (71)	—	—	429 (91)	141 (94)
Plásmido pI258 ( <i>S. aureus</i> )	104 (30)	—	—	429 (59)	131 (18)
<i>B. subtilis</i> (cromosoma)	105 (31)	—	—	346 (24)	139 (18)

<sup>a</sup> Se muestra el número de aminoácidos de cada proteína y en paréntesis el porcentaje de identidad con relación a los productos del operón *ars* del plásmido R773.

mo grado de inhibición del crecimiento. La secuencia de nucleótidos de un segmento del cromosoma de *E. coli* reveló regiones correspondientes a los genes *arsRBC* del operón plasmídico de *E. coli* (10) (Fig 1) que confiere un bajo nivel de resistencia a compuestos de arsénico. El operón *ars* cromosómico de *E. coli* está integrado por un gen regulador y dos genes estructurales, de manera semejante a como está organizado el operón *ars* de *S. aureus*. Sin embargo, los productos de estos genes muestran una gran similitud con sus contrapartes en el operón plasmídico de *E. coli* (más del 90% en el caso de *ArsB* y *ArsC*; Tabla II). El gen *arsR* codifica la proteína reguladora *ArsR* (117 aa) y el gen *arsB* origina la proteína de la membrana *ArsB* (429 aa), que forma un canal iónico que expulsa arsenito y antimonito en un proceso dependiente del potencial de membrana, como ocurre en el sistema de *Staphylococcus* (Fig 2). A su vez, el gen *arsC* codifica la proteína *ArsC* (141 aa), que al igual que las proteínas *ArsC* plasmídicas, lleva a cabo la reducción de arsenato a arsenito (8). Así, aunque los productos de los genes *arsRBC* del operón *ars* cromosómico de *E. coli* poseen una gran similitud con las proteínas correspondientes del operón *ars* plasmídico de *E. coli*, su mecanismo de expulsión así como su organización génica se asemeja más a los sistemas *ars* de las bacterias Gram positivas *Staphylococcus* y *Bacillus* (Figs 1 y 2).

Una región del cromosoma de otra bacteria Gram positiva, *Bacillus subtilis*, confiere resistencia a arsenato y arsenito y posee también secuencias homólogas a los genes *arsR*, *arsB* y *arsC* del operón *ars* del plásmido pI258 de *S. aureus* (11) (Fig 1). El producto del gen *arsR* de *B. subtilis*

también codifica una proteína reguladora que es 31% idéntica a las proteínas homólogas *ArsR* de *E. coli* (Tabla II). *arsB* origina una proteína integral de la membrana que muestra una baja similitud con las proteínas *ArsB* de los operones plasmídicos pI258, pSX267, R773 y del operón cromosómico de *E. coli* (Tabla II). El gen *arsC*, por otra parte, codifica una arsenato reductasa 62 a 64% idéntica a las proteínas *ArsC* de las bacterias Gram positivas y sólo 17 a 18% similar a las proteínas *ArsC* de las bacterias Gram negativas (Tabla II). La secuenciación del genoma completo de *Pseudomonas aeruginosa* reveló la presencia del operón *ars* en el cromosoma de esta especie Gram negativa (12).

La presencia de operones *ars* en el cromosoma de bacterias Gram negativas y Gram positivas sugiere que tales genes se originaron en etapas tempranas de la evolución bacteriana. Esto pudo haber ocurrido en virtud de que los derivados del arsénico han estado en el ambiente desde épocas remotas, con la consecuente selección de variantes resistentes (3). Podría postularse que los genes *ars* plasmídicos fueron inicialmente genes cromosómicos que se transfirieron a los plásmidos; este proceso tiene la ventaja de que los plásmidos pueden existir en un número mayor de copias por célula que el cromosoma y, por lo tanto, permiten un aumento de los niveles de resistencia a arsénico.

### EXPULSIÓN DE CROMATO

El cromo puede presentar estados de oxidación de -2 a +6. Algunos compuestos de cromo hexavalente, como los cromatos ( $\text{CrO}_4^{2-}$ ), se consideran contaminantes ambientales y se han catalogado como sustancias tóxicas y mutagénicas. Por su similitud química, el cromato es transportado ha-

cia el interior de las células bacterianas por la vía de captación del sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) (13).

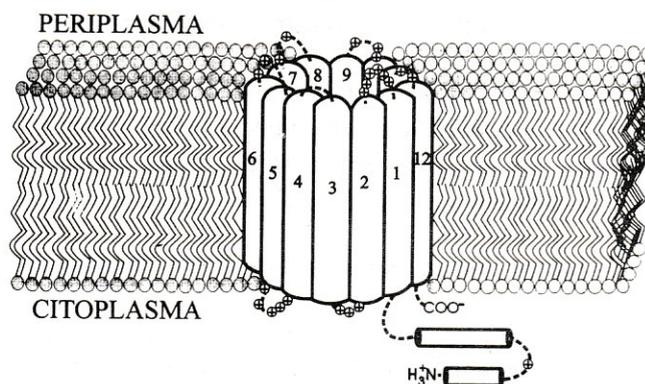
### Mecanismos de expulsión de cromato

**a) Sistema ChrA de *Pseudomonas* y *Alcaligenes*.** Aunque se han identificado varias cepas bacterianas resistentes a cromato (3), sólo los determinantes de resistencia de los plásmidos pUM505 y pMOL28 de las bacterias Gram negativas *Pseudomonas aeruginosa* y *Alcaligenes eutrophus*, respectivamente, se han estudiado a nivel molecular (14, 15). En los dos casos se localizó un gen, denominado *chrA*, que codifica la proteína hidrofóbica ChrA, de 416 aa en *P. aeruginosa* y de 401 aa en *A. eutrophus*. Aunque estos determinantes no mostraron similitud por hibridación DNA-DNA, los polipéptidos deducidos presentan un 29% de aa idénticos (Tabla III) y sus perfiles hidropáticos son similares.

En experimentos de transporte de cromato radiactivo, se encontró que los determinantes *chrA* causan una disminución en la acumulación de cromato, confirmándose la participación de ChrA en el transporte del ion. Se postuló que ChrA está involucrada en un sistema de expulsión de cromato, probablemente funcionando como un transportador de la membrana (3). La Figura 3 muestra un modelo de la estructura de la proteína ChrA de

*P. aeruginosa* y su posible interacción con la membrana bacteriana; este modelo hipotético se basa en el análisis del perfil hidropático de ChrA que predice la presencia de 12 segmentos transmembranales.

Utilizando vesículas invertidas de membrana, recientemente se demostró que la proteína ChrA



**Figura 3.** Modelo hipotético de la proteína ChrA de *Pseudomonas aeruginosa* de acuerdo al perfil hidropático. La proteína tiene 220 aminoácidos inmersos en la membrana constituyendo 12 dominios intermembranales (cilindros grandes) que forman el transportador involucrado en la expulsión de cromato. Se muestran las regiones citoplásmicas de la proteína (cilindros pequeños) y las posiciones de los aminoácidos básicos (+), que probablemente participan en la unión del cromato. Tomada de A.H. Alvarez (1999), Tesis de Maestría, UMSNH.

TABLA III

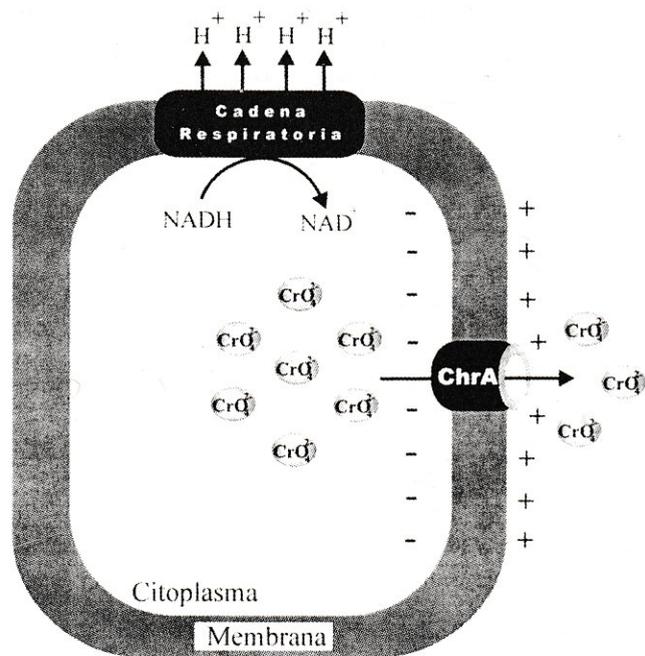
SIMILITUD DE LAS PROTEÍNAS ChrA CON POSIBLES HOMÓLOGAS Y CON OTRAS PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS DE MEMBRANA

ChrA	PROTEÍNA (BACTERIA)	TAMAÑO (AA)	% DE AMINOÁCIDOS IDÉNTICOS	% DE AMINOÁCIDOS HIDROFÓBICOS
	ChrA ( <i>P. aeruginosa</i> )	416	–	63
<i>P. aeruginosa</i>	ChrA ( <i>A. eutrophus</i> )	401	29	63
	SrpC ( <i>Synechococcus</i> )	393	23	58
	X* ( <i>Synechocystis</i> )	399	30	60
	MJ0718 ( <i>Methanococcus</i> )	402	26	60
	ArsB ( <i>E. coli</i> )	429	20	62
	ChrA ( <i>A. eutrophus</i> )	401	–	–
<i>A. eutrophus</i>	SrpC ( <i>Synechococcus</i> )	–	62	–
	X* ( <i>Synechocystis</i> )	–	33	–
	MJ0718 ( <i>Methanococcus</i> )	–	26	–
	ArsB ( <i>E. coli</i> )	–	22	–

\* Proteína aún sin nombre.

de *Pseudomonas* participa en la expulsión de cromato: las vesículas que expresan esta proteína acumulan más cromato que las vesículas preparadas de una cepa sensible al ion (16). La captación de cromato por las vesículas mostró una cinética de saturación con una  $K_m$  aparente de 0.12 mM de cromato y una  $V_{max}$  de 0.5 nmol de cromato/min por mg de proteína. La expulsión de cromato promovida por ChrA es dependiente de energía y, por lo tanto, sensible a inhibidores respiratorios y a ionóforos. De estos resultados se ha concluido que ChrA expulsa cromato empleando el potencial de membrana como fuente de energía (16) (Fig 4). El sulfato, un análogo del cromato (13), también inhibe la captación de cromato por las vesículas.

Se ha encontrado similitud de ChrA con la proteína SrpC, codificada por el plásmido pANL de la cianobacteria *Synechococcus* sp., la cual aparentemente está relacionada con el transporte de sulfato (17). El gen *srpC* se expresa sólo a bajas concentraciones de sulfato y codifica una proteína que presenta 62% de identidad de aminoácidos con ChrA de *Alcaligenes* (Tabla III). Sin embargo, a



**Figura 4.** Mecanismo de expulsión de cromato por la proteína ChrA de *Pseudomonas aeruginosa*. Se muestra la localización de ChrA en la membrana bacteriana y su participación como un transportador que expulsa los iones cromato del citoplasma hacia el exterior. También se esquematiza la cadena respiratoria proporcionando la energía protomotriz que impulsa al transportador. Adaptada de la referencia 16.

diferencia de ChrA, la proteína SrpC causa una acumulación intracelular de cromato y las mutantes alteradas en el gen *srpC* son resistentes a cromato; así, SrpC puede ser más bien un sistema de captación de sulfato en *Synechococcus* (17).

En los últimos años, con la determinación de la secuencia de nucleótidos de los genomas completos de varios microorganismos, se han localizado genes cuyos productos muestran similitud con ChrA. Esta semejanza se refiere sobre todo al tamaño de la proteína y a las proporciones de aminoácidos hidrofóbicos, aunque la cantidad de aminoácidos idénticos no es muy elevada (Tabla III), lo que impide reconocer la homología de estos sistemas. Entre los microorganismos donde se han identificado estas secuencias están la arqueobacteria *Methanococcus jannaschii* y la cianobacteria *Synechocystis* sp. (12). Otras proteínas de menor tamaño pero con similitud con ChrA se han deducido de las secuencias de los genomas de la bacteria Gram positiva *B. subtilis* y de la espiroqueta *Borrelia burgdorferi* (12; Tabla III). En estos casos se desconoce si los genes homólogos de ChrA participan en la resistencia a cromato. En la Tabla III se incluye ArsB, la proteína del operón *ars* cromosómico de *E. coli*, la cual muestra similitud en el tamaño y en la proporción de aminoácidos hidrofóbicos con ChrA; esta semejanza podría estar relacionada con el hecho de que tanto ArsB como ChrA participan en procesos de expulsión de oxianiones (Fig 2).

Como se indicó para los operones *ars*, los genes *chr* podrían haber surgido en fases tempranas de la evolución bacteriana, dada su aparente presencia en una gran variedad de especies; la localización de los genes *chr* tanto en plásmidos como en cromosomas, se asemeja también a la distribución de los genes *ars* en los distintos grupos bacterianos, aunque no se ha demostrado una homología funcional en el caso de los genes *chr*.

#### b) Otros sistemas de expulsión de cromato.

Una cepa de *Pseudomonas fluorescens* que posee el plásmido de resistencia a cromato pLHB1, acumula 2.2 veces menos cromato que la cepa sensible (13). Este sistema posiblemente está basado en la expulsión de cromato, como se describió para la proteína ChrA de *P. aeruginosa*, aunque se desconoce el mecanismo preciso de la resistencia.

## CONSIDERACIONES FINALES

El estudio de los sistemas bacterianos de expulsión de iones inorgánicos tóxicos ha sido abordado con gran interés en los últimos años, aprovechando en gran parte los procedimientos de la genética molecular. Así, varios mecanismos de expulsión que confieren resistencia a metales pesados se han descrito con detalle (1, 2, 18). La mayoría de estos sistemas se basan en el empleo de ATPasas de tipo P, o bien se acoplan con el potencial de membrana, como fuentes de energía para la eliminación citoplásmica de los cationes nocivos. Como se muestra en esta revisión, los determinantes bacterianos de resistencia que dan origen a los sistemas de expulsión de arsenito (y antimoniato) se conocen con gran detalle a nivel molecular. Por otra parte, un determinante de tolerancia a cromato fue recientemente asociado con un proceso de expulsión que involucra el potencial de membrana como fuente energética. Los genes que codifican los sistemas de expulsión de arsenito o cromato se encuentran ampliamente difundidos tanto en plásmidos como en cromosomas de diversas especies bacterianas. Esta distribución probablemente se relaciona con la eficiencia de estos mecanismos como formas de defensa ante los oxidantes tóxicos que con frecuencia son contaminantes ambientales.

## AGRADECIMIENTOS

El trabajo de los autores ha sido apoyado por la Coordinación de la Investigación Científica, UMNSH.

## REFERENCIAS

1. Silver S y Phung L T (1996) Bacterial heavy metal resistance: New surprises. *Ann Rev Microbiol* 50:753-789.
2. Cervantes C (1999) Resistencia bacteriana a los metales pesados. En: Contaminación Ambiental por Metales Pesados. Impacto en los Seres Vivos. Editores: Cervantes C y Moreno-Sánchez R. AGT Editor SA. México DF. pp 41-59.
3. Cervantes C y Silver S (1992) Plasmid chromate resistance and chromate reduction. *Plasmid* 27:65-71.
4. Cervantes C, Ji G, Ramírez J L y Silver S (1994) Resistance to arsenic compounds in microorganisms. *FEMS Microbiol Rev* 14:355-367.
5. Rosen B P, Dey S, Dou D, Ji G, Kaur P, Ksenzenko M Y, Silver S y Wu J (1992) Evolution of an ion-translocating ATPase. *Ann New York Acad Sci* 671:257-272.
6. Chen C, Misra T K, Silver S y Rosen B P (1986) Nucleotide sequence of the structural genes for an anion pump: the plasmid-encoded arsenical resistance operon. *J Biol Chem* 261:15030-15038.
7. Silver S, Ji G, Bröer S, Dey S, Dou D y Rosen B P (1993) Orphan enzyme or patriarch of a new tribe: the arsenic resistance ATPase of bacterial plasmids. *Mol Microbiol* 8:673-642.
8. Ji G y Silver S (1992). Reduction of arsenate to arsenite by the ArsC protein of the arsenic resistance operon of *Staphylococcus aureus* plasmid pI258. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:9474-9478.
9. Ji G y Silver S (1992) Regulation and expression of the arsenic resistance operon from *Staphylococcus aureus* plasmid pI258. *J Bacteriol* 174:3684-3694.
10. Sofia H J, Burland V, Daniels D L, Plunkett G y Blattner F R (1994) Analysis of the *Escherichia coli* genome. V. DNA sequence of the region from 76.0 to 81.5 minutes. *Nucleic Acids Res* 22:2576-2686.
11. Sato T y Kobayashi Y (1998) The *ars* operon in the *skin* element of *Bacillus subtilis* confers resistance to arsenate and arsenite. *J Bacteriol* 180:1655-1661.
12. Las secuencias de los genomas se encuentran disponibles en el sitio de Internet: [www.ncbi.nlm.nih.gov/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)
13. Ohtake H, Cervantes C y Silver S (1987) Decreased chromate uptake in *Pseudomonas fluorescens* carrying a chromate resistance plasmid. *J Bacteriol* 169:3853-3856.
14. Cervantes C, Ohtake H, Chu L, Misra T y Silver S (1990) Cloning, nucleotide sequence, and expression of the chromate resistance determinant of *Pseudomonas aeruginosa* plasmid pUM505. *J Bacteriol* 172:287-291.
15. Nies A, Nies D H y Silver S (1990) Nucleotide sequence and expression of a plasmid-encoded chromate resistance determinant from *Alcaligenes eutrophus*. *J Biol Chem* 265:5648-5653.
16. Alvarez A H, Moreno-Sánchez R y Cervantes C (1999) Chromate efflux by means of the ChrA chromate resistance protein from *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 181:7398-7400.
17. Nicholson M L y Laudenbach D E (1995) Genes encoded on a cyanobacterial plasmid are transcriptionally regulated by sulfur availability and CysR. *J Bacteriol* 177:2143-2150.
18. Cervantes C (2000) Mecanismos de expulsión de metales tóxicos en bacterias. *Boletín de Educación Bioquímica*, 19(1):24-31.

## COMENTARIOS SOBRE LIBROS DE RECIENTE PUBLICACIÓN

### Las citocinas en la hematopoyesis y Sistema inmunológico: Mecanismos celulares y moleculares

Editores Académicos: Isabel Soto Cruz, Julio R. Cáceres Cortés, Jorge Flavio Mendoza Rincón y Benny Weiss Steider. 1999. ISBN 968-856-715-9.

A la venta en: Librerías de la UNAM y Librerías de Cristal. Precio de venta al público: \$195.00 (pesos M.N.)

Colaboradores:

Julio Roberto Cáceres Cortés (Clinical Research Unit of Montreal, Canada)

Fabián Flores Borja (FES-Zaragoza, UNAM)

Jorge Hernández Montes (FES-Zaragoza, UNAM)

Rebeca López Marure (FES-Zaragoza, UNAM e Instituto Nacional de Cardiología)

Catalina Machuca Rodríguez (FES-Zaragoza e Instituto de Fisiología Celular, UNAM)

Héctor Mayani Vivero (Centro Médico Nacional Siglo XXI, del IMSS)

Jorge Flavio Mendoza Rincón (FES-Zaragoza, UNAM)

Alberto Monroy García (FES-Zaragoza, UNAM)

Juan José Montesinos Montesinos (FES-Zaragoza, UNAM y Servicio de Hematología, Hospital General de México)

María de Lourdes Mora García (FES-Zaragoza, UNAM)

Rosalva Rangel Corona (FES-Zaragoza, UNAM)

Guillermo J. Ruiz Argüelles (Centro de Hematología y Medicina Interna de Puebla y Laboratorios Clínicos de Puebla)

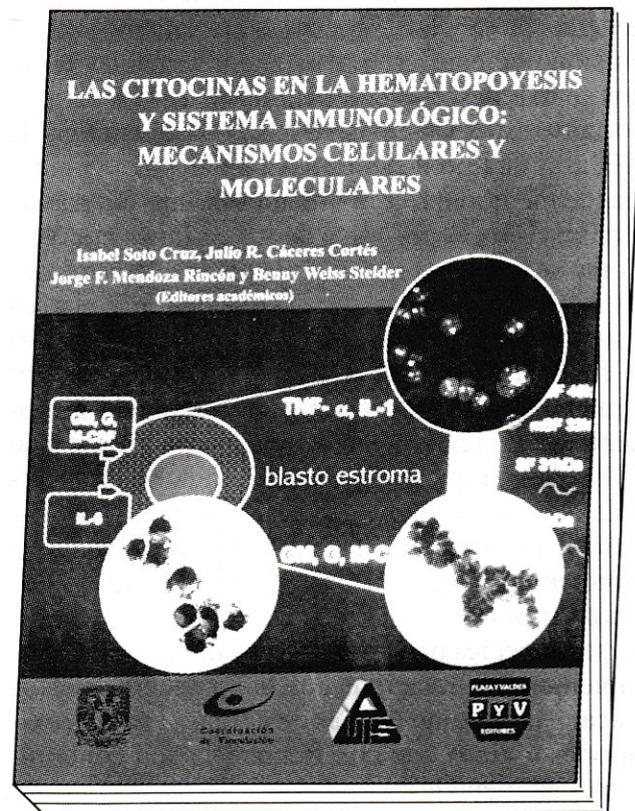
Edelmiro Santiago Osorio (FES-Zaragoza, UNAM)

Isabel Soto Cruz (FES-Zaragoza, UNAM)

Benny Weiss Steider (FES-Zaragoza, UNAM)

Isaac Rodrigo Zambrano Ramírez (FES-Zaragoza, UNAM)

Editado por: Plaza y Valdés S.A. de C.V. en 1999, en colaboración con el Programa Universitario de Investigación en Salud de la Coordinación de Vincu-



lación de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Las citocinas son productos endógenos sintetizados por los vertebrados superiores de naturaleza proteica que al ser secretados actúan como señales parácrinas o autócrinas modificando la vida de las células que poseen receptores de membrana para estos factores. La activación de estos receptores afecta la vida de una gran variedad de tipos celulares sirviendo como factores de supervivencia, factores de proliferación, factores de diferenciación e incluso como factores promotores de muerte celular por apoptosis. En este libro se presenta una descripción detallada y actualizada de los mecanismos celulares y moleculares de diferentes citocinas sobre la supervivencia, proliferación, diferenciación y muerte de células durante la maduración del sistema hematopoyético y sobre células maduras de este mismo linaje celular. Si

bien existen muchos textos especializados sobre este campo en inglés, esta obra viene a llenar un vacío en nuestro idioma. El material está organizado en 7 secciones: 1) Introducción a la hematopoyesis, 2) Factores estimuladores de colonias, 3) Interleucinas de la 1 a la 18, 4) Receptores y transducción, 5) Apoptosis, 6) Aplicaciones clínicas y 7) Manipulación genética.

Esta obra es el resultado de la colaboración de diferentes autores, la mayoría de ellos Profesores Investigadores pertenecientes y formados en la Unidad de Investigación en Diferenciación Celular y Cáncer, de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza de la UNAM. Cuentan con la valiosa colaboración de hematólogos clínicos como el Dr Héctor Mayani Viveros y el Dr Guillermo Ruiz Argüelles. Como es natural en una obra de esta índole, que resulta de la compilación de capítulos escritos de manera independiente por diferentes colaboradores, la profundidad y el tipo de información de cada uno ellos no es uniforme y no existe una estructura común en los mismos. Por ejemplo, esta heterogeneidad se refleja en el tratamiento de aspectos clínicos dentro de cada capítulo. Debilidad que se compensa parcialmente con el capítulo dedicado a “Factores de crecimiento hematopoyético en el tratamiento de pacientes con leucemia aguda mieloblástica”, desarrollado de manera crítica y clara por el Dr Guillermo Ruiz Argüelles. Llama la atención la ausencia de capítulos dedicados al interferón gamma y al factor de necrosis tumoral beta o linfo toxina, importantes modulares de la función, activación y maduración de células del linaje hematopoyéticas. También está ausente buena parte de la información obtenida con animales transgénicos o con deficiencias homocigas de diferentes citocinas o de sus receptores, sistemas que han puesto de manifiesto la importancia de las diferentes citocinas en diferentes etapas de la hematopoyesis.

1. El primer capítulo “Las células seminales del sistema hematopoyético”, escrito por Héctor Mayani Viveros, presenta una introducción general a la hematopoyesis clara y actualizada así como una perspectiva histórica del desarrollo del conocimiento sobre las citocinas hematopoyéticas.

2. Los siguientes cuatro capítulos están dedicados al: “Factor Estimulador de Células Progenito-

ras”, por Jorge Hernández Montes; “Factor Estimulador de Colonias de Granulocitos y Macrófagos”, por María de Lourdes Mora García y Edelmiro Santiago Osorio; “Factor Estimulador de Colonias de Granulocitos”, por Catalina Machuca Rodríguez, y al “Factor Estimulador de Colonias de Macrófagos”, por Edelmiro Santiago Osorio y María de Lourdes Mora García.

3. Los siguientes tres capítulos están dedicados a las interleucinas 1, 2, 3 escritos por Fabián Flores Borja, Rosalva Rangel Corona y Jorge Flavio Mendoza Rincón, respectivamente. A estos tres capítulos les siguen dos capítulos dedicados a las interleucinas 4 y 6 escritos por Rebeca López Marure. Esta sección finaliza con la discusión de las interleucinas 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 y 18 en un solo capítulo, desarrollado por Jorge Flavio Mendoza Rincón.

4. De manera separada se trata a los receptores y a los sistemas de transducción en dos capítulos independientes. El capítulo de “Receptores de Citocinas” fue preparado por Alberto Monroy García, Juan José Montesinos Montesinos y Catalina Machuca Rodríguez y el capítulo de “Factores de Crecimiento Hematopoyético y Transducción de Señales” fue preparado por Isabel Soto Cruz.

5. El capítulo siguiente presenta una introducción general a la apoptosis preparado por Julio Roberto Cáceres Cortés.

6. El capítulo dedicado a “Factores de Crecimiento Hematopoyéticos en el Tratamiento de Pacientes con Leucemia Aguda Mieloblástica” fue escrito por Guillermo Ruiz Argüelles.

7. El capítulo final trata la “Transferencia Genética en Células Hematopoyéticas” y fue preparado por Isaac Rodrigo Zambrano Ramírez.

La información presentada sobre las propiedades fisicoquímicas, bioquímicas y las funciones de diferentes citocinas durante la hematopoyesis será de interés para los hematólogos en formación, así como para alumnos y profesores de posgrado y licenciaturas en particular como una obra de referencia para los cursos de inmunología.

Comentado por Alejandro Zentella Dehesa  
Departamento de Biología Celular  
Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México

## PROBLEMA BIOQUÍMICO

### TEMA: Cinética enzimática

La piruvato fosfato dicinasa (PPDK) es una enzima trirreactante que cataliza de manera reversible la conversión de fosfo(enol)piruvato (PEP), pirofosfato (PPi) y AMP en piruvato, fosfato y ATP. Esta enzima se encuentra en *Entamoeba histolytica* (EhPPDK) pero está ausente en el ser humano, por lo que ha sido considerada como una enzima blanco para el diseño de fármacos en contra de este parásito.

Para determinar el mecanismo cinético de reacción de una enzima trirreactante, es conveniente ana-

lizarla experimentalmente mediante combinaciones de sólo dos sustratos, manteniendo constante y saturante al tercero; es decir como si fuera una enzima birreactante. Por lo tanto la actividad de la EhPPDK se determinó a diferentes concentraciones de AMP y PEP con PPi saturante. El experimento se realizó acoplado la reacción de la EhPPDK con la de la lactato deshidrogenasa y siguiendo espectrofotométricamente la desaparición de NADH (0.2mM) a 340 nm y 25°C.

A continuación se presentan las velocidades iniciales del experimento descrito:

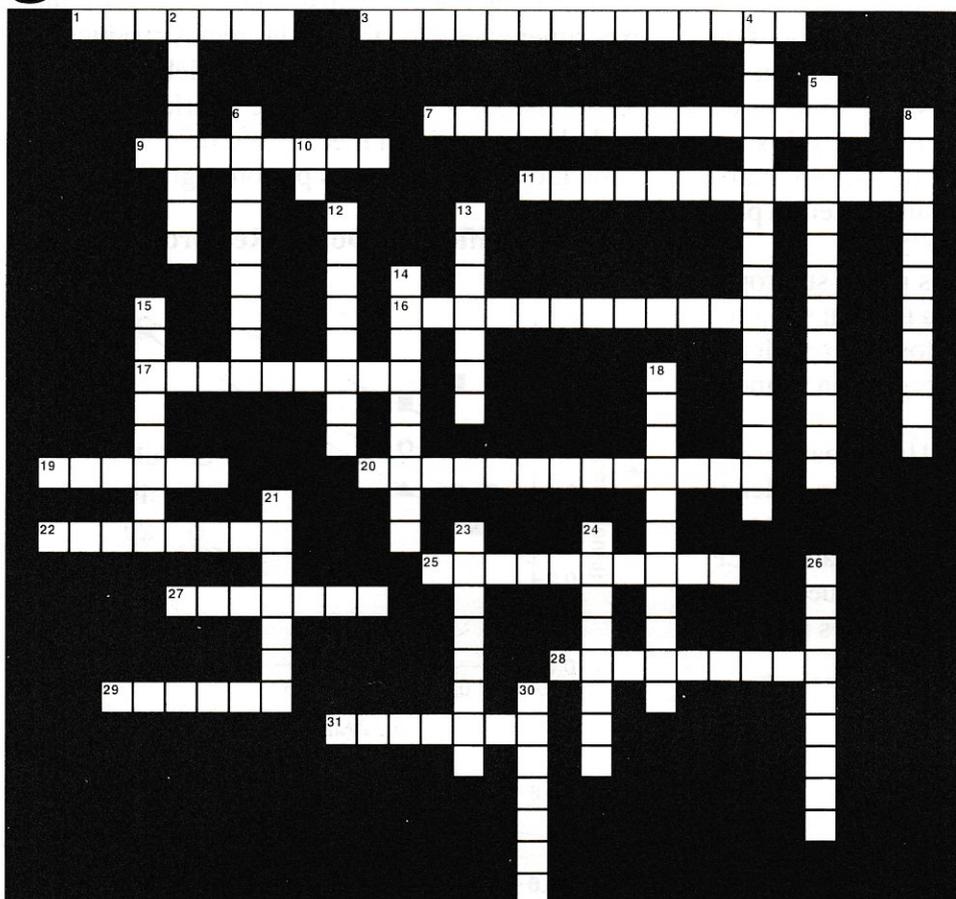
AMP ( $\mu\text{M}$ )	Velocidad inicial ( $\mu\text{mol NADH/mg/min}$ )		
	PEP ( $\mu\text{M}$ )		
	10	20	40
1	1.18	1.29	1.33
3	1.67	2.00	2.50
5	1.54	2.50	2.96
7	2.00	2.86	3.20
9	2.50	3.33	–

Determinar el mecanismo cinético que existe entre el PEP y el AMP en la reacción catalizada por la EhPPDK y los parámetros  $V_{\text{max}}$  y  $K_{\text{m}}$  para AMP y PEP.

# CRUCIBIOQ

Yolanda Saldaña Balmori

## QUÍMICA DE CARBOHIDRATOS



### VERTICALES

2. Proteínas solubles unidas a carbohidratos, presentes en los vegetales, como ejemplos: la concanavalina y la fitohemaglutinina.
4. Triosa cetónica.
5. Derivados aldehídicos o cetónicos de polialcoholes que al oxidarse liberan 4 Kcal/g.
6. Se encuentra presente tanto en aldehídos como en cetonas.
8. Ácido, heteropolisacárido, se localiza en piel y en líquido sinovial entre otros.
10. Grupo funcional presente cinco veces en la galactosa.
12. Cuando se reúne con la glucosa forma sacarosa.
13. Polisacárido constituido por dos tipos de moléculas, una con residuos unidos por enlaces alfa 1-4 y la otra con uniones alfa 1-4 y alfa 1-6.
14. Epímero de la glucosa.
15. Formada por una cetoheptosa y una aldohexosa.
18. Unión que reúne a dos monosacáridos.
21. Disacárido producto de la digestión del almidón.
23. Isómeros, como por ejemplo alfa y beta glucosa.
24. Homopolisacárido abundante en el tronco leñoso de los árboles.
26. Ácido, es un antioxidante y previene el escorbuto.
30. Disacárido de glucosa y su epímero en el carbono 4.

### HORIZONTALES

1. Homopolímero de fructuosa, se encuentra presente entre otros, en los tubérculos y raíces de las dalias.
3. Triosa aldehídica.
7. Tienen funciones muy variadas, entre otras: inmunológicas, de reconocimiento, protectoras y de transporte.
9. Estructura cíclica de las aldohexosas.
11. Pentosa sin hidroxilo en el carbono 2.
16. Homopolisacárido con uniones alfa 1-4 y con ramificaciones mediante uniones alfa 1-6, cada 24 o 30 residuos.
17. Disacárido de glucosas unidas por enlace beta 1-4, indigerible por el humano.
19. Molécula de cinco átomos de carbono, se encuentra presente en los nucleótidos.
20. Reacción en la que la glucosa eleva su nivel de energía.
22. Estructura cíclica de la fructosa.
25. Importante función de los carbohidratos en la dieta del humano.
27. Forma parte del exoesqueleto de los insectos y crustáceos.
28. Forma en la que se almacena la energía en hígado y músculo.
29. Glicoproteína presente en la saliva, tiene función lubricante.
31. Molécula que al polimerizarse da lugar al almidón.

# PROBLEMA BIOQUÍMICO

## RESPUESTA.

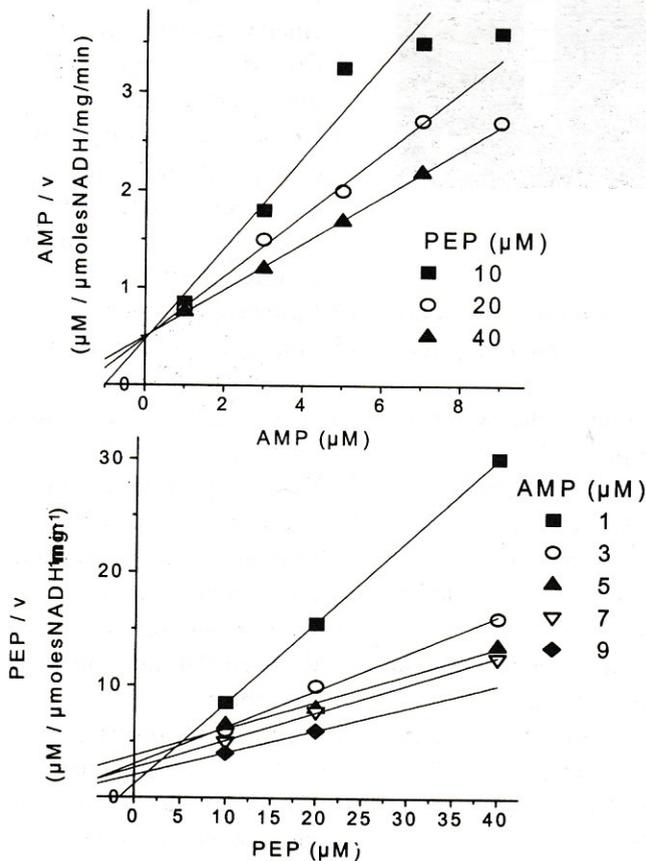
Existen dos categorías de mecanismos cinéticos de reacción: los secuenciales (azar y ordenado) en los que se forma el complejo enzima-sustratos antes de iniciar la formación de los productos y los no secuenciales (Ping Pong o doble desplazamiento) donde la enzima transforma cada sustrato en su producto correspondiente (Segel, 1975).

Cada uno de estos mecanismos posee su propia ecuación de velocidad, con lo que pueden ser diferenciados. Se graficaron los datos del problema mediante dos diferentes tipos de regresiones lineales Hanes y dobles recíprocos.

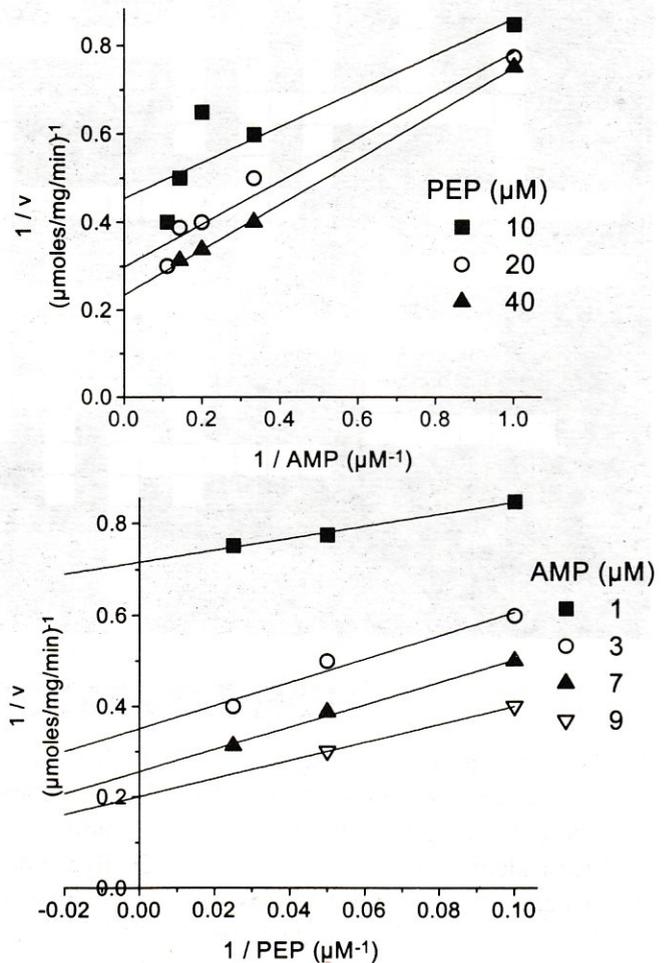
En el caso de los gráficos de Hanes parece ser que las rectas se cruzan sobre el eje de las ordenadas, lo que indicaría que la EhPPDK tiene un mecanismo cinético de doble desplazamiento para el PEP y el AMP; sin embargo esta tendencia no queda completamente clara. Las líneas de los dobles recíprocos

parecen ser paralelas, apoyando un mecanismo de tipo Ping Pong. La distribución de los puntos experimentales a lo largo de las rectas producto del ajuste no es del todo satisfactoria, debido a la dispersión de los datos, por lo que podría haber alguna duda al sugerir un mecanismo de doble desplazamiento a partir de estos patrones gráficos.

### Gráficos de Hanes



### Gráficos de Dobles Recíprocos

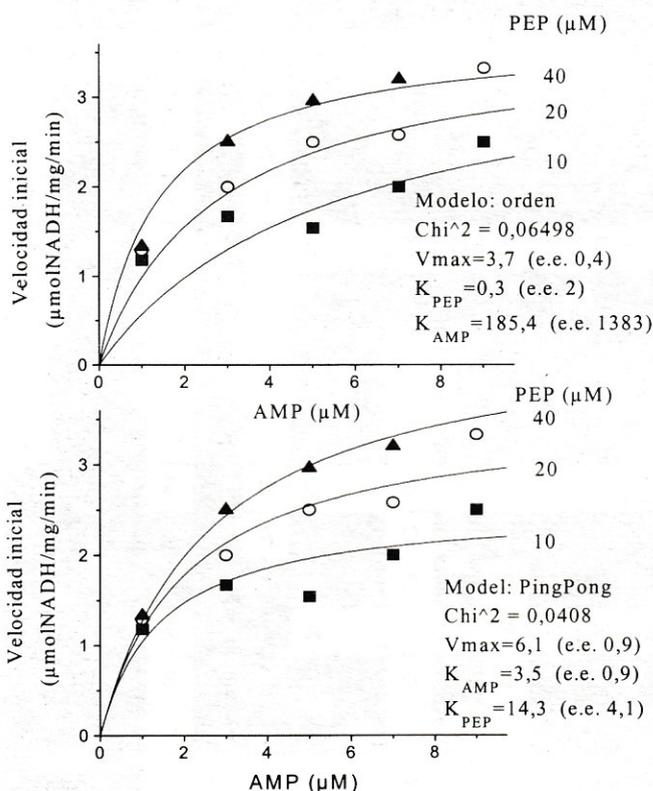


La linealización de una ecuación no lineal es muy común; sin embargo estas manipulaciones matemáticas involucran un rearrreglo de la distribución del error. El grado de inexactitud introducido por este tipo de análisis depende de los rearrreglos hechos en la ecuación y del error presente en los datos originales (Leatherbarrow, 1990).

Con la regresión no lineal no hay manera de incrementar el error experimental ya que no es nece-

sario reorganizar los datos experimentales originales y en consecuencia no existe ninguna distorsión en la distribución del error. La regresión no lineal muestra la mejor curva que se ajuste a los datos experimentales, en tanto que la regresión lineal muestra la recta que mejor se ajusta a la manipulación de los datos experimentales (Leatherbarrow, 1990).

**Regresión no lineal**



Por regresión no lineal puede analizarse cualquier ecuación que pueda ser escrita como  $y = f(x)$ . Los datos del problema que aquí se presenta fueron ajustados mediante el paquete Origin versión 3.73 a la ecuación que describe un mecanismo Ping Pong y uno ordenado para poder comparar entre estos mecanismos. Debido a que la Chi<sup>2</sup> es más pequeña en el ajuste para la ecuación de Ping Pong y a que los errores experimentales y los valores de las constantes cinéticas determinadas a partir del ajuste (V<sub>max</sub> y K<sub>m</sub>) son mucho más reales que los obtenidos para la ecuación del mecanismo ordenado, se consideró como mejor ajuste

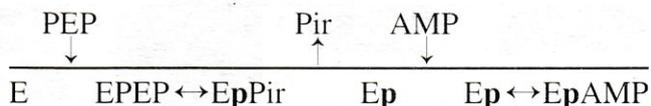
el que corresponde a la ecuación del mecanismo de doble desplazamiento.

Ecuación para un mecanismo de tipo Ping Pong:

$$v = \frac{V_{max} (AB)}{K_{m_B}(A) + K_{m_A}(B) + (AB)}$$

El único inconveniente de la regresión no lineal, es que los cálculos son muy complejos debido a los algoritmos que se utilizan para realizar las iteraciones, por lo que es necesaria una computadora. Como actualmente cada laboratorio tiene la capacidad de contar por lo menos con un equipo de cómputo, este inconveniente no representa ninguna dificultad. Origin, SigmaPlot, GraFit y CurveFit son algunos programas comerciales de computadora que realizan regresiones no lineales.

Conociendo el mecanismo cinético que existe entre el AMP y PEP se puede plantear un esquema de Cleland para esta reacción parcial de la reacción catalizada por la EhPPDK.



Esquema de Cleland de la reacción parcial en la que sólo se toman en cuenta los cosustratos AMP y PEP.

Se sabe que el PEP y P<sub>i</sub> tienen un mecanismo de doble desplazamiento en esta enzima y el P<sub>i</sub> se une a la enzima fosforilada (E<sub>p</sub>) una vez que se ha liberado el piruvato (Pir). El P<sub>i</sub> cede uno de sus grupos y sólo hasta entonces puede unirse el AMP para que la enzima pirofosforilada ceda los fosfatos y se produzca ATP.

**Bibliografía**

Leatherbarrow R (1990) TIBS. 15(12):455-458 pp.  
 Segel I (1975) Ezyme kinetics. John Wiley and Sons, New York. Cap.9, pp 606-626

# SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ

1 I N U L I N A      2 G L I C E R A L D E H I D O  
E  
C  
T      6 C      7 G L I C O P R O T E I N A S      8 H  
9 P I R A N O S A      10 O S A      D R I  
N R H      11 D E S O X I R R I B O S A  
A B      12 F      13 A      O O L  
S O      R      L      X H U  
N      U      G M      I I R  
15 S      I C      16 A M I L O P E C T I N A      D O  
A L T L D      C R N  
17 C E L O B I O S A      O      18 G      E A I  
A S C N      L T T C  
R A T      U O O O  
19 R I B O S A      20 F O S F O R I L A C I O N S  
S      S O A  
22 F U R A N O S A      A      23 A      24 C      S  
L      25 E N E R G E T I C A      26 A  
27 Q U I T I N A      O L D S  
O M U I C  
S E      28 G L U C O G E N O  
R O A R  
29 M U C I N A      30 L      O A      B I  
31 G L U C O S A      S C A      C I  
S C A      T C  
O S  
A

# **CONVOCATORIA**

## **REGISTRO DE PRECANDIDATOS PARA OCUPAR LA PRESIDENCIA DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A C DURANTE EL BIENIO 2000-2001**

De acuerdo al artículo noveno de los estatutos de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A C, el Consejo Directivo convoca a sus asociados a postular candidatos para ocupar la Presidencia de la Asociación durante el bienio 2000-2001, a partir del 1º de septiembre del año 2000.

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

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

Para que cada candidato quede propiamente registrado, las cartas de postulación de los asociados y la documentación de cada candidato deberán ser entregadas al Dr Alejandro Zentella en el Instituto de Fisiología Celular, de la UNAM, antes del 15 de julio del año 2000.

De acuerdo al artículo décimo segundo de nuestros estatutos, el próximo Presidente será elegido de la lista de candidatos generada por el Consejo Directivo de la Asociación. La elección del nuevo Presidente se llevará a cabo durante la reunión de negocios del VIII Congreso de la Asociación, programada para el mes de agosto del año 2000.

Ningún candidato podrá ser registrado después del 15 de julio del año 2000, después de lo cual el Consejo Directivo analizará todas las propuestas para generar la lista de candidatos elegibles durante la sesión regular de negocios de la Asociación que se realizará durante el VIII Congreso.

### **Entrega de documentos:**

Elisa Salles Mora  
Cubículo 3,  
Departamento de Bioquímica,  
Facultad de Medicina, UNAM  
Ciudad Universitaria,  
04510, México, DF. 04510  
Tel: 5623-2170, Fax: 5616-2419  
[beb@laguna.fmeic.unam.mx](mailto:beb@laguna.fmeic.unam.mx)

Dr Alejandro Zentella Dehesa  
Laboratorio 204-Edificio Sur,  
Departamento de Biología Celular,  
Instituto de Fisiología Celular, UNAM  
Ciudad Universitaria,  
04510, México, DF  
Tel: 5622-5609, Fax: 5622-5611  
[azentell:@ifcsun1.ifisiol.unam.mx](mailto:azentell:@ifcsun1.ifisiol.unam.mx)



# LA SOCIEDAD MEXICANA DE BIOQUÍMICA, A C

## CONVOCA

a la comunidad científica interesada en pertenecer a nuestra Sociedad como  
*Socios Numerarios o Socios Estudiantes.*

### REQUISITOS:

#### *SOCIOS NUMERARIOS:*

- a) Ser investigadores que estén desarrollando trabajos en cualesquiera de las diferentes ramas de la química biológica.
- b) Haber publicado cuando menos dos artículos originales de investigación bioquímica.
- c) Ser propuestos, en cualquier tiempo, por dos miembros numerarios de la Sociedad
- d) *Currículum vitae*, resaltando sus aportaciones al campo de la investigación (publicaciones) (ENVIAR COPIA FOTOSTÁTICA DE LA PRIMERA HOJA DE SUS PUBLICACIONES).
- e) Carta Solicitud expresando las razones que motivan su proposición, certificando asimismo, que el candidato se ha enterado de los Estatutos de la Sociedad y se comprometa a observarlos.

#### *SOCIOS ESTUDIANTES:*

- a) Deberán ser alumnos de alguna institución de enseñanza y/o investigación que se encuentren trabajando en aspectos de investigación bioquímica.
- b) Presentar una carta-solicitud de admisión avalada por dos de sus profesores, miembros numerarios de la sociedad.

### DIRIGIR SOLICITUDES A:

**Dr Edmundo Chávez, Presidente**  
**o Dr Heliodoro Celis, Vicepresidente**  
Sociedad Mexicana de Bioquímica, A C  
Edif del Instituto de Fisiología Celular, UNAM  
Apdo Postal 70-600,  
04510 México, D F

Fecha límite de recepción de solicitudes:

**30 de junio de 2000.**

Visite nuestra página en internet:  
<http://ifcsun1.ifisiol.unam.mx/smb/>

## **CUOTAS PARA LA ACTUALIZACIÓN DE MEMBRESÍA Y ASISTENCIA AL VIII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A C**

Durante la sesión regular de negocios de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A C (AMPB), realizada el 13 de agosto de 1999 en el Palacio de Medicina de la UNAM; el pleno fijó las siguientes cuotas para el año 2000:

### **MONTO DE LA CUOTA ANUAL**

<b>Asociados numerarios .....</b>	<b>\$300.00 (M.N.)</b>
<b>Asociados estudiantes .....</b>	<b>\$150.00 (M.N.)</b>

Esta cuota permitirá recibir el BEB, asistir al VIII Congreso de la AMPB sin ningún pago adicional y participar en las sesiones de negocios, recibiendo una constancia de asistencia y/o de membresía. Durante la misma sesión se acordó que los asistentes al congreso que quieran estar inscritos formalmente, deberán pagar una inscripción de \$400.00 que les dará derecho a recibir una constancia de asistencia y/o participación durante el VIII Congreso de la AMPB.

**FORMA DE PAGO:** Deposite su pago a la cuenta Bancomer No. 1153813-9 llenando la ficha de depósito a nombre de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A C. Escriba su nombre completo en la parte superior de la ficha de depósito anotando el concepto por el cual deposita (membresía 2000) y envíe por fax una copia de la ficha, junto con su forma de actualización (ver forma anexa). Si radica fuera de México comunicarse con el Dr Zentella para especificar la forma de pago. Durante el VIII Congreso podrá canjear la ficha de depósito por un recibo oficial de la Asociación, por el pago de su cuota anual.

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

Elisa Salles, al 5616-2419, o al Dr Alejandro Zentella, al 5622-5611.

# **SEMANA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 2000**

Realización del

**XXVII TALLER DE ACTUALIZACIÓN BIOQUÍMICA**

y del

**VIII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA  
DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A C**

Del 14 al 17 de agosto de 2000.

Sede

Palacio de la Escuela de Medicina  
Facultad de Medicina de la UNAM  
esquina de Venezuela y Brasil,  
Centro Histórico de la Ciudad de México, D.F.

Departamento de Bioquímica  
de la Facultad de Medicina  
de la UNAM

Asociación Mexicana de  
Profesores de Bioquímica,  
A C

# XXXVII TALLER DE ACTUALIZACIÓN BIOQUÍMICA

## Semana del 14 al 17 de agosto de 2000

HORA	LUNES 14	MARTES 15	MIÉRCOLES 16	JUEVES 17	VIERNES 18
8:00	Inscripción				
9:00 a 9:15	Inauguración	Nutrición. Emma Gloria Ramos CINVESTAV	Oxido nítrico. Diether Masher Fac. Medicina, UNAM	Toxicología molecular. Emilio Rojas IIB, UNAM	Presencia de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A C (AMPB, A C).
9:15 a 10:30	Cáncer. Saúl Villa Treviño CINVESTAV				
RECESO					
10:45 a 12:15		Enzimas de alimentos. Isabel Guerrero Legarreta UAM-I	Citosinas en la fertilización. Guadalupe Maldonado Fac. de Medicina, UNAM	Drogadicción. Silvia Cruz CINVESTAV	Congreso de la AMPB, A C
RECESO					
12:30 a 14:00	Genética. Alicia González IFC, UNAM	Anemias y vitaminas. Homero Hernández CMN Siglo XXI	Citoesqueleto. Mireya de la Garza CINVESTAV	Toxicología ambiental. Leticia Bucio UAM-I	Congreso de la AMPB, A C
RECESO					
16:00 a 19:00	Taller organizado por el CINVESTAV.				

# CONVOCATORIA AL VIII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A C

**Viernes 18 de agosto de 2000**

Palacio de Medicina  
Facultad de Medicina de la UNAM  
Esquina de Venezuela y Brasil,  
Centro Histórico de la Ciudad de México, DF

**OBJETIVO:** El Congreso de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A C tiene como principal objetivo que los profesores de bioquímica y áreas afines de las diferentes licenciaturas y posgrados del país, tengan un foro donde puedan compartir y discutir sus experiencias docentes en un ambiente crítico y académico. Nuestro propósito es favorecer la interacción entre los diferentes profesionales que participan en la enseñanza de la bioquímica y áreas afines.

**PARTICIPANTES:** A este foro están invitados: profesores e instructores de laboratorio de bioquímica y áreas afines, de cualquier licenciatura o posgrado del país, así como investigadores interesados en la enseñanza.

**INSCRIPCIÓN DE TRABAJOS:** Se aceptará un máximo de dos trabajos por ponente. Los trabajos podrán ser incluidos en las siguientes categorías:

- Análisis sobre la efectividad y/o aplicación de planes de estudio ya en marcha.
- Aplicación de sistemas de enseñanza mediada por computadora.
- Efectividad de diferentes sistemas de evaluación.
- Estudios poblacionales sobre índices de aprobación y/o deserción.
- Desarrollo de modelos bioquímicos y/o fisiológicos para la docencia.
- Aplicación y/o innovación de prácticas de laboratorio.
- Otros: experiencias docentes, técnicas motivacionales y/o desarrollo de material didáctico.

Los resúmenes de los trabajos propuestos no deberán exceder una hoja carta con 2.5 cm de margen y un tipo de letra arial de 12 puntos. Se deberá especificar el título, los autores y su adscripción. Deberá incluir una introducción, objetivo, métodos y/o técnicas empleadas, resultados y las conclusiones más relevantes.

Entregar el resumen con Elisa Salles Mora en el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM. Apartado Postal: 70-281, México D.F. 04510. Tel: 5623-2170, Fax: 5616-2419, correo electrónico: beb@laguna.fmedic.unam.mx

**FECHA LÍMITE**  
**para entregar resúmenes**  
**Viernes 14 de julio de 2000.**

# SOCIEDAD MEXICANA DE BIOLOGÍA DEL DESARROLLO, A C

## CONVOCATORIA

**La Sociedad Mexicana de Biología del Desarrollo (SMBD) invita a los integrantes de la comunidad científica que realizan trabajo de investigación y difusión sobre tópicos relacionados con esta área, en México o fuera del país, a incorporarse como socios numerarios, correspondientes, honorarios o estudiantes de acuerdo con los siguientes requisitos:**

I. Presentar por escrito su solicitud de admisión acompañada de su curriculum vitae y por dos cartas de apoyo extendidas por socios numerarios de la SMBD. En estas cartas, los firmantes deberán expresar claramente que les consta el interés del candidato por el estudio, investigación y difusión del conocimiento relacionado con la Biología del Desarrollo. También debe estipularse que los candidatos conocen y se comprometen a observar los estatutos de la SMBD.

II. Para incorporarse como socio numerario se requiere además:

- a) Dedicarse al estudio e investigación en cualquiera de las ramas de la Biología del Desarrollo.
- b) Haber publicado dos o más artículos de investigación sobre algún tema relacionado con la Biología del Desarrollo durante los últimos cinco años anteriores a su solicitud.

III. Se podrán incorporar a la SMBD en calidad de socios correspondientes, los solicitantes extranjeros que se encuentren trabajando en una institución fuera de la República Mexicana y que cumplan con los requisitos arriba señalados (I y II). También podrán incorporarse en esta categoría los solicitantes extranjeros que realicen o hayan participado internacionalmente en labores editoriales en revistas de prestigio en esta disciplina o hayan desarrollado una labor significativa en sociedades internacionales de disciplinas afines a la misma.

IV. También se podrán integrar a la SMBD como socios honorarios, aquellas personas retiradas o jubiladas que realicen actividades administrativas, editoriales relativas a la docencia, investigación o la difusión de la Biología del Desarrollo o disciplinas afines. En este caso, los candidatos deberán ser propuestos por 10 socios, de los cuales cuando menos 6 deberán ser socios numerarios, que indiquen la conveniencia de la incorporación del candidato a la SMBD. La propuesta deberá acompañarse del curriculum vitae del candidato.

V. Los estudiantes inscritos en un programa de Posgrado respaldado por una institución académica de la República Mexicana, que realicen investigación en alguna disciplina relacionada con la Biología del Desarrollo, podrán formar

parte de la SMBD como socios estudiantes. También podrán incorporarse en esta categoría aquellos estudiantes que se encuentren realizando su tesis de licenciatura sobre algún tópico relacionado sobre la Biología del Desarrollo. Los solicitantes deberán acompañar su solicitud de una Constancia actualizada de su situación académica y de un resumen de su proyecto de tesis avalado por su tutor académico.

VI. La fecha límite para presentar las solicitudes es el 30 de junio de 2000. Las solicitudes deberán ser enviadas a alguno de los integrantes de la Comisión de Membresía. El presidente y el secretario de esta Comisión presentarán por escrito sus recomendaciones a la Mesa Directiva de la SMBD, que a su vez las presentará a la Asamblea de Socios para su aprobación. La decisión de la Asamblea será comunicada por escrito al solicitante y a sus proponentes por el Presidente y el Secretario de la Mesa Directiva de la SMBD.

La Comisión de Membresía en turno está integrada por:

### **Dra Raquel Trejo Albarrán**

Presidenta de la Comisión de Membresía y Vicepresidenta de la SMBD. Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas, Hospital de Oncología, CMN-SXXI. Av Cuauhtémoc 330, Col Doctores. CP 06725. México, DF. Tel: 5627-6900 ext. 4323 Fax: 5671-0952

### **Dra Graciela Meza Ruiz**

Departamento de Neurociencias. Instituto de Fisiología Celular. UNAM. Circuito Exterior de Ciudad Universitaria. CP 04510. México, DF. Tel: 5622-5588 Fax: 5622-5607

### **M en C Silvia Galván Huerta**

Departamento de Biología Celular. Instituto de Investigaciones Biomédicas. UNAM. Circuito Exterior de Ciudad Universitaria. CP 04510. México, DF. Tel: 5622-3871 Fax: 5622-3897

### **Dr Samuel Gómez Aguirre**

Departamento de Zoología. Instituto de Biología. UNAM. Circuito Exterior de Ciudad Universitaria. CP 04510. México, DF. Tel: 5622-5702

México, DF, 3 de mayo de 2000.

## CONGRESOS NACIONALES E INTERNACIONALES

### 4a Reunión Internacional sobre Avances en la Restauración Cerebral

**Del 5 al 10 de junio de 2000.**  
Centro Médico Nacional Siglo XXI  
Auditorio de la Academia Mexicana de Cirugía.  
Edificio de las Academias, 2º Piso.

Informes e inscripciones:  
Unidad de Investigación en Epidemiología  
Clínica y Neurología  
Hospital de Pediatría del CMN, Siglo XXI, IMSS  
Cuauhtémoc No. 330, Col. Doctores  
CP 06720, México, DF. MEXICO  
Tel: 5627-6900 ext: 3071 o 3072

Cupo limitado a 300 alumnos:  
(200 nacionales y 100 extranjeros)

Costo del evento hasta el 30 de mayo de 2000:  
Socios: 60 dólares (US), no socios: 120 dólares (US)  
Estudiantes y residentes: 50 dólares (US)

Después del 30 de mayo de 2000:  
Socios: 70 dólares (US), no socios: 150 dólares (US)  
Estudiantes y residentes: 80 dólares (US)

### 18<sup>th</sup> International Congress IUBMB/FEBS 2000

**Del 16 al 20 de julio de 2000,**  
en Birmingham, Inglaterra

Información completa en:  
[http://www.iubmb2000.org/programme/  
programme.cfm?meetno=iubmb2000](http://www.iubmb2000.org/programme/programme.cfm?meetno=iubmb2000)  
Keith Gull o Adam Marshall  
59, Portland place  
London, W1N 3AJ  
England, UK  
e-mail: [info@iubmb2000.org](mailto:info@iubmb2000.org)  
e-mail: [adam.marshall@portlandpress.com](mailto:adam.marshall@portlandpress.com)

### XX Congreso Latinoamericano de Fisiología

**Del 3 al 7 de septiembre de 2000,**

en la ciudad de Cancún,  
Yucatán, México.

Información completa en:  
<http://www.servimed.com.mx>

### Apoptosis y su Detección Curso Práctico

Organizado por la Asociación Mexicana  
de Biología del Desarrollo  
Con apoyo de Roche

Ensayos de: Viabilidad Celular,  
Fragmentación de ADN, TUNEL,  
Detección de Anexina V, Detección de  
Caspasas y Detección de PARP

Sede: Instituto de Fisiología Celular, UNAM  
**Del 17 al 22 de julio de 2000**

Participantes:  
Rocío Salceda  
Julio Morán Andrade  
Jose Luis Ventura  
Alejandro Zentella

Informes:  
Dra Rocío Salceda Sacanelles  
Tel: 56-22-56-69  
correo electrónico: [rsalceda@ifisiol.unam.mx](mailto:rsalceda@ifisiol.unam.mx)

## IV Congreso Nacional de Biología Molecular en Medicina

Que se llevará a cabo durante la Reunión sobre  
Genética y Biomedicina Molecular 2000  
**Del 15 al 21 de octubre de 2000,**  
en Monterrey, N L

Tópicos: Genoma Humano, Terapia Génica,  
Vacunas, Diagnóstico Molecular, Nuevas Técnicas  
Moleculares, Biología Molecular en las  
Especialidades Clínicas.

Eventos: Curso Pre-Congreso, Conferencias  
Magistrales, Ponencias Orales, Ponencias en  
Cartel, Minisimposium, Actividades  
Socioculturales, Exhibición de Tecnología  
Científica.

Informes: página electrónica de la AMBMM  
[www.biomedicas.unam.mx/ambmm/](http://www.biomedicas.unam.mx/ambmm/)

### Comité Directivo

Dr Vicente Madrid Marina,  
Depto Biología Molecular, CISEI, INSP  
Cuernavaca, Morelos, MEXICO,  
Fax: (73) 17-54-85  
correo electrónico: vmarina@insp3.insp.mx

Dr Alejandro García Carrancá,  
Depto de Biología Molecular, Inst de  
Investigaciones Biomédicas, UNAM  
México, DF. MEXICO, Fax: (5) 622-38-91  
correo electrónico: carranca@servidor.unam.mx

Dr José Moreno,  
Lab de Inmunología, IMSS, Centro Médico  
Nacional Siglo XXI. México, DF.  
MEXICO, Tel: (5) 627-69-00 ext: 1608  
correo electrónico: moreno@mail.internet.com.mx

### Comité Local

Dr Hugo Barrera Saldaña,  
Depto de Bioquímica, ULIEG, Fac Med, UANL  
Monterrey, N L, MEXICO,  
Fax: (8) 329-41-73  
correo electrónico: hbarrera@uanl

Dra Cristina Rodríguez Padilla,  
Lab de Inmunobiología y Virología, Fac Biol, UANL  
Monterrey, N L, MEXICO,  
Fax: (8) 352-42-12

## Simposio "DNA Enzymes: Structures & Mechanisms"

Organizado por el Indian Institute of Sciences  
en Bangalore, INDIA  
**Del 1 al 3 de diciembre de 2000.**

Conferencias Magistrales y Carteles  
Sesiones Científicas:

1. Endonucleasas de Restricción  
–Estructura y Bioquímica.
2. DNA Metiltransferasas  
–Estructura y Mecanismos.
3. Enzimas implicadas en  
la Recombinación Genética.
4. Interacciones entre Proteínas y ADN  
durante la reparación del ADN.
5. Mecanismos de Replicación del ADN.
6. Estructura Función y Mecanismos de  
Reacción de Topoisomerasas.
7. Endonucleasas  
–Evolución y Nuevas Actividades.

Inscripción: 200 dólares (USD) antes  
del 15 de septiembre de 2000.

**Fecha límite para la recepción de resúmenes:  
15 de septiembre de 2000.**

Más información en la página electrónica del  
Indian Institute of Sciences:  
<http://biochem.iisc.ernet.in>  
o directamente con:

Desirazu N Rao, Department of Biochemistry  
Indian Institute of Science,  
Bangalore - 560 012, INDIA  
Tel: 91-80-309-2538  
Fax: 91-80-360-0683 / 360-0814  
Email: dnrao@biochem.iisc.ernet.in

V. Nagaraja, Department of Microbiology  
& Cell Biology  
Indian Institute of Science,  
Bangalore - 560 012, INDIA  
Tel: 91-80-360 0668, 91-80-309 2598  
Fax: 91-80-360 2697 / 91-80-360 0683  
Email: vraj@mcbl.iisc.ernet.in



# XXIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Bioquímica, A C

## Acapulco, Gro.

DEL 19 AL 24 DE NOVIEMBRE DEL 2000

### PROGRAMA PRELIMINAR DEL CONGRESO

DOMINGO 19	HORARIO	LUNES 20	MARTES 21	MIÉRCOLES 22	JUEVES 23	VIERNES 24	
	8:15-9:15 Conferencias Magistrales	Dra. Rocío Sierra, Yale Univ. USA	Dr. Armando Aranda, UAEM	Dr. Mauricio Montal, Univ. California, USA	Dr. Joaquín V. Arribas López Hosp. Graf. Vall d' Hebron, Barcelona	Dr. Enrique Soto, INN "SZ"	
	9:15-9:30	RECESO					
I N S C R I P C I O N E S	9:30-11:00 Simposia Plenarios	Plantas Alfredo Herrera Estrella	Genoma Julio Collado	Bioenergética Marietta Tuena	Biol. Mol. y Cel. de Hongos Jesús Aguirre	Inmunología Sergio Estrada Parra	
	11:00-11:30	CAFÉ					
	11:30-13:00 Simposia Plenarios	Procariontes Fernando Bastarrachea	Financiamiento para Invest Gladys Faba	Neuroquímica Ricardo Tapia investigación Sergio Estrada- Orihuela	Relación industria-	Toxicología Guillermo Elizondo	
	13:00-16:00	COMIDA					
	16:00-18:00  Simposia  Simultáneos	Genética I Carmen Gómez  Est. Fun. Membra. I Isabel Baeza  Est. Fun. Macro I Arturo Rojo  Metabolismo I Victoria Chagoya	Bioq. Fisiol. Micro. I Juan. P. Laclette  Des. Dif. Cel. I Alfonso Cárabez  Inmunología I Iris Estrada  Trans. Sin. Neuro. I Sergio Sánchez	<i>Tarde libre</i>	Genética II Miguel Gómez  Est. Fun. Membra. II Luis González  Est. Fun. Macro II - Juan Luis Rendón  Metabolismo II Marco A. Juárez	Bioq. Fisiol. Micro. II Mireya de la Garza  Des. Dif. Cel. II Dr. Luis Miguel Salgado  Inmunología II Rubén López  Trans. Sin. Neuro. II Mauricio Díaz Muñoz	
Inauguración	18:00-18:30	CAFÉ					
Conferencia Inaugural Dr. Armando Gómez Puyou  17:00-18:00  Recepción de 18:15-19:00	18:30-23:00	Carteles NONES	Carteles NONES  Sesión de Negocios 20:00 a 21:00			Carteles PARES	Carteles PARES
							Cena-clausura 22:00

## EL COMITÉ ORGANIZADOR DEL XXIII CONGRESO NACIONAL DE BIOQUÍMICA

### MESA DIRECTIVA 1999-2001

Dr Edmundo Chávez Cossío,  
Tel: 5573-2911; Fax: 5573-0926;  
echavez@cenids.ssa.gob.mx

Dr Federico Martínez Montes,  
Tel: 5623-2168, Fax: 5616-2419,  
fedem@servidor.unam.mx, o  
fedem@laguna.fmedic.unam.mx

Dr Heliodoro Celis Sandoval,  
Tel: 5622-5667, Fax: 5622-5611,  
hcelis@ifisiol.unam.mx

Dra Gloria Soberón Chávez  
Tel: (5) 6227629/ 6227634, Fax: (73) 172388  
correo electrónico: gloria@ibt.unam.mx

#### DUDAS O COMENTARIOS

En caso de tener alguna duda o comentario, por favor comuníquese con la **Sra Guadalupe Ramírez**, a los teléfonos 5622-5603 y 5622-5604, Fax: 5616-2282, o al correo electrónico [secdir@ifisiol.unam.mx](mailto:secdir@ifisiol.unam.mx)

Para información, visite la página en Internet de la Sociedad Mexicana de Bioquímica en la siguiente dirección:

<http://ifcsun1.ifisiol.unam.mx/smb/>

## SOCIEDAD MEXICANA DE BIOLOGÍA DEL DESARROLLO, A C CONVOCATORIA

La Sociedad Mexicana de Biología del Desarrollo, con el fin de estimular y promover el estudio de la biología del desarrollo **Convoca al Concurso de elaboración del Logotipo de la Sociedad, bajo las siguientes**

#### B A S E S

1. Podrán participar estudiantes de cualquier nivel de escolaridad.
2. Un autor sólo puede presentar un trabajo.
3. Los trabajos deben presentarse a tinta, en blanco y negro, en un tamaño máximo de 20 x 30 cm, considerando que será reducido a un tamaño de 4 x 4 cm.
4. El resultado se dará a conocer vía telefónica o fax a partir del 28 de agosto de 2000.
5. El mejor trabajo elegido por el Jurado obtendrá un premio de \$5000.00 (CINCO MIL PESOS).
6. El ganador cederá sus derechos a la Sociedad y el trabajo será el logotipo de la misma.
7. Los trabajos no seleccionados se devolverán a solicitud de los interesados.
8. Los trabajos deberán ser enviados con un seudónimo. En sobre cerrado se enviará la información completa del (los) autor (es) (nombre, dirección, teléfono, constancia de estudiante, etc.). El sobre rotulado con el seudónimo deberá ser enviado o entregado personalmente a:

Dr Julio Morán y/o Dra Rocío Salceda  
Instituto de Fisiología Celular, UNAM  
Circuito Exterior S/N  
Ciudad Universitaria  
CP 04510, México, DF.

9. Esta convocatoria entra en vigor a partir de la fecha de publicación y tendrá como límite para la recepción de trabajos el 31 de julio de 2000.
10. Cualquier punto no previsto en la presente convocatoria será resuelto por los organizadores y los miembros del Jurado.

México, D.F., a 15 de mayo de 2000

## A LOS LECTORES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

### DONATIVO ANUAL 2000

El BEB está en su décimo noveno 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 extracotas de \$200.00 (doscientos pesos) o bien 20.00 US dólares, que hará posible continuar con la elaboración y distribución del volumen 19 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

## INTERESADOS EN PERTENECER A LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A C

Para quienes deseen formar parte de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica A C, les recordamos que de acuerdo al artículo 36º de los estatutos que rigen a la Asociación, los candidatos deberán ser profesionales que ejerzan la docencia de bioquímica en cualquier centro de educación a partir del nivel medio superior.

Los interesados en ser miembros numerarios de nuestra Asociación deberán enviar una carta solicitando su ingreso a la Asociación junto con su curriculum vitae. Esta solicitud deberá ir acompañada por dos cartas de apoyo de dos miembros numerarios. Cada solicitud será evaluada por la Comisión de Admisión que se reúne una vez al año y emite su dictamen que será hecho público durante la sesión regular de negocios que se realiza durante el Congreso de la Asociación. Antes de ser aceptado no es necesario hacer pago alguno en referencia a la membresía.

Si no conoce a ningún miembro que pueda apoyar su solicitud háganoslo saber y envíe su solicitud al:

Dr Alejandro Zentella

Apartado Postal 70-243

México, DF 04510 México

Fax: 5622-5611

Correo electrónico: [azentell@ifcsun1.ifisiol.unam.mx](mailto:azentell@ifcsun1.ifisiol.unam.mx)

## CORRESPONSALES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

Si eres miembro de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A C o suscriptor del BEB y vives fuera de la Ciudad de México, te invitamos a que seas corresponsal nuestra revista en el sitio donde radiques.

Nos interesa contar con corresponsales adscritos a las Instituciones de Educación Superior en todos los estados de la República, así como en lugares de Centro y Sudamérica, España y otros sitios en donde el BEB sea leído.

También nos interesa conocer y publicar las noticias más significativas que en nuestro campo, ocurran en los diferentes lugares, ya sean seminarios, cursos, congresos, talleres, publicaciones, etc.

En el documento Normas del Comité Editorial, que es el que nos rige, hay un apartado para esta actividad, mismo que a continuación se transcribe:

### 5. DE LOS CORRESPONSALES

5. a) Los corresponsales del BEB son profesores y/o investigadores, que sin formar parte del Comité Editorial, coadyuvan en las actividades de la revista. El corresponsal debe ser un miembro sobresaliente de la comunidad académica local o regional. Es deseable un corresponsal en cada una de las Instituciones de Educación Superior de la República Mexicana, Centroamérica, Sudamérica y otras regiones de habla hispana.

5. b) Uno de los editores se encargará de la coordinación de los corresponsales y de la comunicación con ellos para lograr que los objetivos se cumplan. El puesto será rotatorio y se cambiará cada dos o cuatro años, de acuerdo con el Comité Editorial.

5. c) La proposición de corresponsales se hará, mediante documento firmado por cuando menos dos de los editores, que se acompañará con el *Curriculum Vitae* del candidato propuesto.

5. d) La discusión del ingreso de un corresponsal deberá realizarse después de que el Coordinador de Corresponsales haya circulado la información correspondiente y con la asistencia en pleno del Comité Editorial.

5. e) Para ser aceptado, el candidato deberá contar con la aprobación por consenso de los miembros del Comité Editorial.

5. f) En caso de ser admitido, se le hará una invitación formal a la que se anexarán estas normas. Iniciará sus actividades como corresponsal, al recibir el Editor en Jefe la aceptación escrita del candidato.

5. g) El Comité Editorial dará el crédito correspondiente a los corresponsales en la revista en el formato que el propio Comité decida.

5. h) La salida de un corresponsal puede ser por renuncia voluntaria, presentada por escrito, o bien por acuerdo del Comité Editorial, después de la evaluación de sus actividades.

### 5.1 RESPONSABILIDADES DE LOS CORRESPONSALES

5.1.a) Envío a través del Coordinador de Corresponsales de al menos una contribución propia o de su comunidad al año y de las noticias relevantes de su localidad o región.

5.1.b) Mantenimiento del archivo de los suscriptores del BEB de su localidad y comunicación inmediata de los cambios en él.

5.1.c) Colaboración en la promoción, difusión y distribución del BEB entre los miembros de su comunidad.

5.1.d) Colaboración en las promociones de financiamiento económico de la revista.

5.1.e) Elaboración y envío anual de un informe de sus labores que a través del Coordinador de Corresponsales se hará llegar al Comité Editorial junto con una crítica a los números correspondientes.

Por favor, dirige tu correspondencia a la Coordinadora de Corresponsales, Comité Editorial del BEB, Apartado Postal 70-281, México, 04510, DF, MÉXICO, o bien a: Tel.: (52) 5623-2168 / Fax: (52) 5616-2419.

email: balmori@laguna.fmedic.unam.mx

Yolanda Saldaña Balmori  
Coordinadora de Corresponsales del BEB.

## INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

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

### I. ARTÍCULOS DE REVISIÓN

- 1) El artículo deberá enviarse en un disco para computadora, escrito en los procesadores de textos "Winword" o "Word-perfect", 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 y de la solicitud para su publicación, firmada por cada uno de los autores.
- 2) El trabajo debe iniciarse con el título del artículo, nombre de los autores, iniciando por nombre propio completo y marcado como pie de nota, la afiliación del o los autores (por ejemplo: departamento e institución), domicilio, código postal, ciudad, estado, país, teléfono, fax y correo electrónico en caso de tenerlos. Si el título del trabajo es largo, debe incluirse cuatro renglones más abajo, un título breve con un máximo de 60 caracteres, incluyendo los espacios, para insertarlo como cabeza de página.
- 3) 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.
- 4) Se sugiere 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* 14:12-17.

Weindruch R (1996) Caloric restriction and aging. *Sci Amer* 274:32-38.

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.

- 5) 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 1999.
- 6) 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.
- 7) 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-4. 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-5.

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

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

**CONTENIDO**

**EDITORIAL**

CAMBIO Y CONTINUIDAD ..... 76

**ARTÍCULOS**

LA FOTOSÍNTESIS, LAS REACCIONES LUMINOSAS  
Juan Carlos Raya Pérez ..... 78

LAS HEMOGLOBINAS NO SIMBIÓTICAS DE LAS PLANTAS  
Katerina Lira Ruan, Elena Aréchaga Ocampo, Mario Ramírez Yáñez, Miriam Sánchez Sánchez y Raúl Arredondo Peter ..... 87

LOS FLAVONOIDES, ANTIOXIDANTES NATURALES  
María Boffill Cárdenas ..... 95

EXPULSIÓN DE ARSENITO Y CROMATO EN BACTERIAS  
Carlos Cervantes, Angel H Alvarez, Martha I Ramírez y Eréndira Vargas ..... 103

**OTRAS COMUNICACIONES**

COMENTARIOS SOBRE LIBROS DE RECIENTE PUBLICACIÓN: LAS CITOCINAS EN LA HEMATOPOYESIS Y SISTEMA INMUNOLÓGICO: MECANISMOS CELULARES Y MOLECULARES  
I Soto Cruz, J R Cáceres Cortés, J F Mendoza Rincón y B Weiss Steider (Eds.)  
Alejandro Zentella Dehesa (Comentarista) ..... 110

PROBLEMA BIOQUÍMICO. CINÉTICA ENZIMÁTICA  
Marcela Varela Gómez y Rafael Sánchez Moreno ..... 112

CRUCIBIOQ. QUÍMICA DE CARBOHIDRATOS  
Yolanda Saldaña Balmori ..... 113

RESPUESTA AL PROBLEMA BIOQUÍMICO ... 114

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ ..... 116

**CONVOCATORIAS**

REGISTRO DE PRECANDIDATOS PARA OCUPAR LA PRESIDENCIA DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A C, DURANTE EL BIENIO 2000-2001 ..... 117

LA SOCIEDAD MEXICANA DE BIOQUÍMICA, A C. Convocatoria ..... 118

CUOTAS PARA LA ACTUALIZACIÓN DE MEMBRESÍA Y ASISTENCIA AL VIII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A C ..... 119

SEMANA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 2000. Segundo anuncio ..... 120

VIII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, AC  
Segunda convocatoria ..... 122

SOCIEDAD MEXICANA DE BIOLOGÍA DEL DESARROLLO, A C. Invitación ..... 123

CONGRESOS NACIONALES E INTERNACIONALES ..... 124

XXIII CONGRESO NACIONAL DE LA SOCIEDAD MEXICANA DE BIOQUÍMICA, A C ..... 126

SOCIEDAD MEXICANA DE BIOLOGÍA DEL DESARROLLO, A C. Concurso ..... 127

A LOS LECTORES DEL BEB Donativo Anual 2000 ..... 128

INTERESADOS EN PERTENECER A LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A C ..... 128

CORRESPONSALES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA ..... 129

**INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA** ..... 130