ISSN-0187/294X

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).

Vol. 19 No. 4 DICIEMBRE 2000

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

GRACIELA MEZA RUIZ
Instituto de Fisiología Celular
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

ROCÍO SALCEDA SACANELLES
Instituto de Fisiología Celular
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"

MARINA GAVILANES RUIZ
Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

ELIZABETH LANGLEY McCARRON
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
Biotecnología Marina
Centro de Investigación en Alimentos y Desarrollo de Sonora

REVISORES ASOCIADOS AL COMITÉ EDITORIAL

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

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

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

BEB *19*(4): 202-203

EDITORIAL

A LA MEMORIA DE LA SEÑORA ELISA MORA

"El BEB es para mí como un hijo", comentó solemnemente la Sra. Elisa Mora con mucho orgullo y sin ocultar su entusiasmo, franca como siempre y con frescura en su comportamiento y en su hablar. Yo pensé que estaba exagerando y que era una frase hecha y sin importancia. "Ya sé que no me cree y que piensa que estoy hablando por hablar, pero créame, le he dado a la revista parte de mi vida", dijo, como sabiendo lo que yo estaba pensando.

Quise decir: "En verdad le creo" y solamente pude esbozar una leve sonrisa de complicidad ante su descubrimiento. Remató diciendo "y siento un amor especial por la revista y por los que trabajan en ella", como diciendo "entiendo que no me crea pero aún así lo acepto como un buen amigo". Esa mística que sentí en sus palabras provocó, poco a poco, que el BEB se convirtiera en mi propiedad, en mi casa, que siempre me sintiera bien de ir a trabajar para la revista, adquiriendo un sentido humano y una importancia más allá de lo curricular, del trabajo educativo, de la divulgación de la ciencia, la investigación o la academia. La Sra. Elisa Mora trabajó como asistente editorial en el BEB por espacio de 10 años, desde 1989 hasta 1999.

Era un placer especial verla caminar por el pasillo de entrada de su amado Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina (donde laboró 40 años, desde 1959 hasta 1999), sonreír amablemente a todo mundo y prodigar buenos deseos y comentarios positivos a su paso.

Su conocimiento del Departamento de Bioquímica y, en general, del desarrollo de la bioquímica del país era enciclopédico y cada vez que platicaba con ella sobre la historia de la bioquímica en México y, en especial, del desarrollo de esta disciplina en la UNAM, me llenaba de acertados comentarios y de interesantes anécdotas de todos los personajes que fundaron y desarrollaron la bioquímica en el país. Seguramente muchos de ellos le comentaron sus planes, ideales, problemas y logros; y ella, como siempre, tendría las palabras adecuadas para fecilitarlos, animarlos y motivarlos a seguir adelante.

La Sra. Mora tenía un especial interés por la juventud. Entendía y deseaba fervientemente la participación de la gente joven y bien preparada en puestos de decisión. Apoyaba con toda su experiencia a quien podía y derramaba toda su paciencia y empeño para guiar al que se lo pedía. Ella me confesó alguna vez que una de sus motivaciones para jubilarse del BEB y del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina (lo cual ocurrió en 1999), era permitir el desarrollo de ideas jóvenes, aun cuando su mente siempre estuvo abierta. Por supuesto que esta motivación era adicional a su interés por dedicarse a escribir, a estudiar literatura y a dedicarse a su familia.

Su familia era su otra pasión, seguramente la principal. Un amor, una devoción y una admiración absoluta al Dr. Salles, su esposo, su inseparable compañero y su apoyo. Un amor ilimitado a sus hijos Elisa Salles Mora y Marcel Salles Mora y una entrega infinita a sus nietos Calixto y Emiliano.

La recuerdo claramente, trabajando intensamente en su casa en la conformación de un número especial del BEB, cuidando, al mismo tiempo, la preparación de la comida, atendiéndome como si

fuera un invitado especial y no como un latoso que la hacía trabajar fuera de horas de oficina; saturando a su esposo con un amoroso trato. Su esposo pacientemente entendía su trabajo y todavía tenía la amabilidad de establecer una interesante plática con el intruso que invadía su envidiable mundo. Adicionalmente, se daba tiempo para consentir, cuidar y contemplar con admiración los logros progresivos de Calixto. Todo esto, mientras me daba la oportunidad de revisar algunos puntos editoriales de la publicación.

En su casa, el tiempo no parecía transcurrir y la vista de su hermoso jardín completaba una sensación que atraparía a cualquiera. Después de unos minutos en tan armonioso hogar y de convivir con su familia, uno podía entender su amor por la vida y su desbordante felicidad.

A toda su familia la llenó siempre de dulzura y aun cuando era mucha la que les repartía, asombrosamente le quedaba para repartir al resto de los que teníamos la fortuna de ser "de sus consentidos", como ella nos calificaba, quienes éramos muchos y que a pesar de las envidias que teníamos por tratar de ser para ella el más cercano, nos enseñó a compartirla en su afecto y su enorme capacidad de darnos su amor a través de una amistad sincera y absolutamente desinteresada.

Sra. Mora, yo estoy seguro que no es tarde para decirle estas palabras. Usted sabe que fue querida por mí y por muchas otras gentes que tuvimos la fortuna de conocerla y que saben que estas palabras no son vacías y obligadas por las circunstancias. Estoy seguro que estas palabras no llegan tarde, porque yo y muchos de nosotros tuvimos la fortuna de convivir con usted y expresarle todo nuestro respeto y cariño, más de una vez.

Sra. Mora, nunca olvidaré sus consejos, sus puntos de vista, sus palabras de aliento, sus opiniones y su visión de la vida. Su cariño al trabajo, su entrega a las actividades que realizaba, su devoción por la familia y el inmenso amor por la vida son ejemplos que siempre guiarán mis acciones.

Sus pasos no volverán a recorrer los pasillos del Departamento de Bioquímica y su sonrisa no volverá a iluminar a la gente que la quiere. Sin embargo, debe estar segura que su sonrisa, su mirada, su cariño y su pasión, siempre tendrán un lugar en nuestros corazones y que el BEB le seguirá perteneciendo porque usted contribuyó a darle forma y en él siempre vivirá una parte de usted.

Dr. José Víctor Calderón Salinas
Editor en Jefe
Boletín de Educación Bioquímica

BEB *19*(4): 204-211

MECANISMOS DE REGULACIÓN DE LA F_0F_1-ATPasa DE BACTERIAS

Fermín Pacheco Moisés, Ma. Concepción Bravo Peralta y José de Jesús García Trejo. Departamento de Bioquímica. Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chavez" México, D.F. C.P. 14080, Teléfono: 55732911 ext. 1298. Fax: 55730926; Correo electrónico: ferminm@servidor.unam.mx

RESUMEN

La F_0F_1-ATP sintetasa en las bacterias como en el resto de los organismos, es la principal fuente de energía y consiste de un sector extrínseco a la membrana (F_1) en donde se puede efectuar la síntesis o la hidrólisis de ATP y de un sector membranal (F_0) que transloca los iones a través de la membrana. Esta enzima bajo condiciones fisiológicas sólo cataliza la síntesis de ATP, ya que la función hidrolítica se encuentra fuertemente inhibida. Esta inhibición se debe a un sistema complejo de regulación en el que participan la subunidad ε, la unión del Mg-ADP a uno de los sitios catalíticos, la unión alósterica del ATP, el fosfato y la energización de la membrana.

PALABRAS CLAVE: ATP sintetasa, energización de la membrana, Mg-ADP, oxianiones.

ABSTRACT

The activity of F_0F_1-ATP synthase provides the main source of cellular ATP. It uses a transmembrane proton gradient to drive the synthesis of ATP from ADP and inorganic phosphate. This enzyme is composed of a globular domain (F_1), which catalyzes the synthesis/hydrolysis of ATP and a membrane domain (F_0) that transports carries protons through the membrane. Under physiological conditions the enzyme is biased to the ATP synthesis activity because the hydrolytic one is strongly inhibited. This inhibition is exerted by a complex system of regulation, in which the following factors are involved: the ε subunit, binding of Mg-ADP to one catalytic site and ATP to noncatalytic sites, binding of oxyanions, including phosphate, and membrane energization.

KEY WORDS: ATP synthase, membrane energization, Mg-ADP, oxyanions.

ESTRUCTURA DE LAS ATP SINTETASAS

La complejidad estructural de la F_0F_1-ATP sintetasa se incrementa significativamente (de 8 a 15-16 subunidades) al ascender evolutivamente de bacterias a mamíferos superiores. La simplicidad genética y estructural de la enzima en bacterias (Tabla I) ha facilitado los análisis estructurales y funcionales y es por ello que es el tema central de esta revisión.

Cuando se encuentra disociado de la membrana, el sector F_1 sólo hidroliza al ATP ya que no puede sintetizarlo de manera continua en ausencia de la energía proveniente del gradiente de protones. Este sector está constituido por 5 subunidades, las cuales son designadas de manera decreciente de acuerdo con el número de subunidades y masa molecular. Estas subunidades son: α, β, γ, δ y ε con la siguiente relación estequiométrica: 3:3:1:1:1. En tanto que el sector F_0 bacteriano lo forman las subunidades a, b y c con la estequiometría 1:2:9-12 (1).

La cantidad y proporción de las distintas subunidades que forman a la ATP sintetasa es prácticamente la misma en las diferentes especies de bacterias; excepto en algunos casos como la enzima de *Clostridium pasteurianum*, la cual es la forma más simple, ya que parece contener únicamente 4 diferentes subunidades, 3 de las cuales formarían al sector F_1. Se ha postulado que la ATP sintetasa original fue muy simple y que puede estar representada por la enzima de esta bacteria (2). Sin embargo, dada la falta de las subunidades a y b del sector F_0, resulta muy importante entender como funciona la ATP sintetasa de *C. Pasteurianum* en ausencia del tallo exterior de la misma (Fig. 1), que además tiene un papel crucial como estator (ver adelante).

TABLA I

SUBUNIDADES QUE COMPONEN AL COMPLEJO F_0F_1-ATP SINTETASA DE DIVERSAS FUENTES

CLOSTRIDIUM PASTEURIANUM	*CLOSTRIDIUM THERMOAUTOTROPHICUM*	*E. COLI*	CLOROPLASTO	MITOCONDRIA
—	α_3	α_3	α_3	α_3
a_2	β_3	β_3	β_3	β_3
—	—	—	—	IF_1
c_1	γ_1	γ_1	γ_1	γ_1
d_{a2}	δ_1	δ_1	δ_1	OSCP
—	ε_1	ε_1	ε_1	δ_1
—	—	—	—	ε_1
—	—	a_1	IV	a_1
—	—	b_2	I, II	b_2
f_a	c_{8-9}	c_{9-12}	III_{9-12}	c_{9-12}
—	—	—	—	E, F6, A6L, f, g

La cantidad de subunidades que forman a la enzima se muestran como subíndices. En el caso de *C. pasteurianum*, no se conoce la secuencia de sus subunidades, de tal manera que la posible correspondencia de las subunidades a y c con las de *E. coli* se basa en la unión de inhibidores. No se conoce la cantidad de subunidades f_a, que constituyen al sector membranal.

En la estructura cristalográfica del sector F_1 de la enzima mitocondrial de corazón de bovino; las subunidades α y β se encuentran arregladas alternadamente para formar un hexámero $\alpha_3\beta_3$, como los segmentos de una naranja, alrededor de una cavidad central en la que se encuentra parte de la subunidad γ. Esta estructura se ha tomado como representativa del resto de las ATP sintetasas debido al alto grado de similitud en la orientación de las subunidades del sector F_1 de otros organismos, incluyendo las bacterias. La estructura tridimensional de este sector en la bacteria termofílica PS3 y de *Escherichia coli* muestra un arreglo paralelo de las subunidades α y β similar al sector F_1 mitocondrial (4). En particular, en *E. coli*, el hexámero $\alpha_3\beta_3$ se encuentra conectado al sector membranal por dos segmentos o tallos. El tallo central está formado por las subunidades γ y ε que hacen contacto con el oligómero de las subunidades c; en tanto que el tallo exterior lo constituyen los segmentos hidrofílicos del dímero de las subunidades b y por la subunidad δ (Fig. 1) (Revisado en (3)).

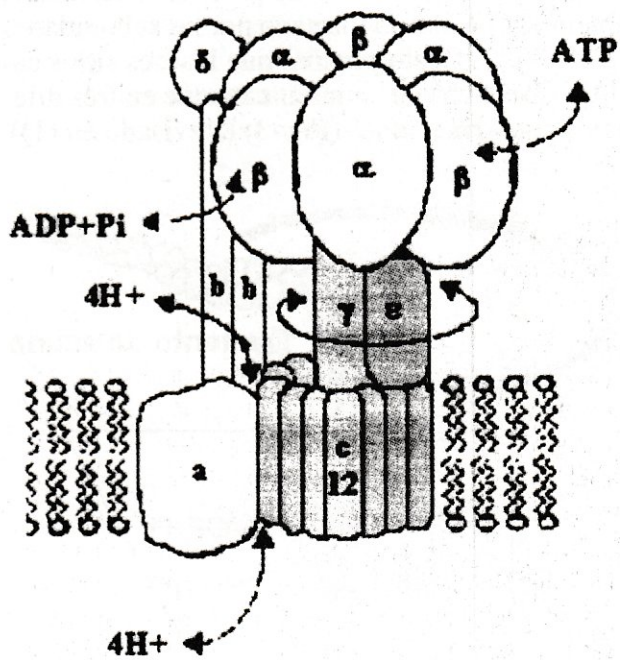


Figura 1. Diagrama esquemático de la F_0F_1-ATP sintetasa de *E. coli* . En el actual modelo catalítico las subunidades mostradas en gris rotan como una unidad durante la translocación de protones y la síntesis/hidrólisis de ATP. En tanto que las subunidades mostradas en blanco permanecen relativamente fijas con respecto a las otras. Actualmente se cree que el dominio formado por las subunidades $\gamma\varepsilon c$ rota en el sentido contrario a las manecillas del reloj durante la hidrólisis de ATP, observando al rotor de F_0 a F_1. Se ha propuesto que la rotación es inversa durante la síntesis de ATP (8). Modificado de: Rastogi VK y Girvin ME (1999) Nature *402*: 263-268.

MECANISMO CATALÍTICO

Para entender cómo funciona esta enzima y cuáles son los mecanismos de regulación, se ha empleado la cinética enzimática, la cristalografía de rayos X, la microscopía electrónica, la espectrofluorescen-

cia, la microscopía de fluorescencia y la biología molecular. Además, se han clonado las subunidades que forman a la enzima de la bacteria termofílica PS3 y de *E. coli* y se ha modificado su secuencia de aminoácidos en sitios clave para estudiar el papel de algunos aminoácidos o para formar puentes disulfuro entre las subunidades (3).

Con base en las técnicas mencionadas, se ha propuesto (1) y recientemente demostrado (revisado en 3, (5)) que esta enzima funciona a través de un mecanismo catalítico rotacional en el que la hidrólisis del ATP impulsa la rotación del dominio γ/ε/c. Por lo anterior, se cree que durante la síntesis de ATP, los protones transportados a través del sector F_0 impulsan la rotación del oligómero de las subunidades c, lo que provoca a su vez la rotación de las subunidad γ y ε y esto facilita los cambios conformacionales en los sitios catalíticos que liberan al ATP producido en el sector F_1. Es decir, la energía derivada del flujo de protones ocasiona la rotación del dominio formado por las subunidades γ-ε-c (Fig. 2) y esto permite que los tres sitios catalíticos se alternen simultáneamente en tres diferentes conformaciones (Fig. 3) (Revisado en (1)).

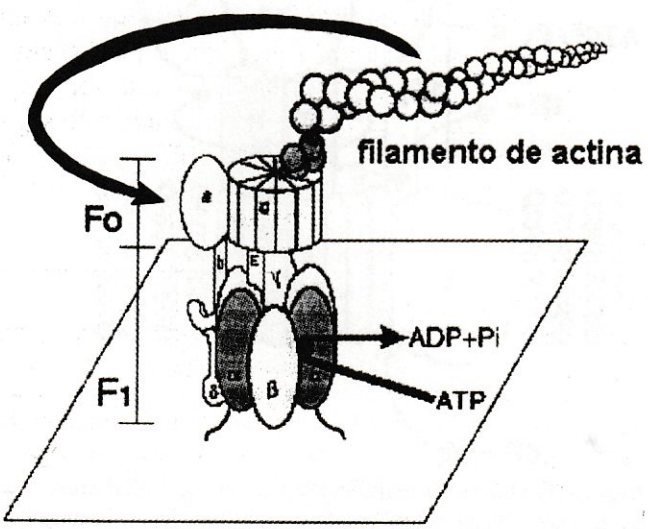


Figura 2. Diagrama esquemático del diseño experimental empleado para demostrar la rotación de las subunidades c durante la hidrólisis de ATP por la F_0F_1-ATP sintetasa de *E. coli*. En este diseño las subunidades α se anclaron a un portaobjetos con níquel para mantenerlas fijas y se unió un filamento fluorescente de actina-estreptavidina a una de las subunidades c. Se observó que durante la hidrólisis de ATP el filamento de actina giró en el sentido indicado por la flecha. Modificado de: Sambongi Y y col., (1999) Science *286*: 1722-1724.

Recientemente se demostró que la hidrólisis que ocurre en el sitio catalítico de alta afinidad no se detiene al bloquear la rotación con puentes disulfuro entre el rotor y el estator (6). De acuerdo con el mecanismo de cambio de unión (1) y con otros datos termodinámicos que muestran un $\Delta G^{0'} \approx 0$ para la hidrólisis en este primer sitio catalítico, la fuerza que impulsa al rotor de la enzima no es la reacción de hidrólisis ($ATP + H_2O \Leftrightarrow ADP + Pi + H^+$) sino la energía de unión de los sustratos. En el sentido de la síntesis de ATP, el movimiento del rotor y la liberación del ATP de F_1, se impulsan con el flujo de protones por F_0. Sin embargo, se ha observado que la energía de unión del ADP induce la liberación del ATP en F_0F_1 (7) y en la F_1 soluble (8). Esto implica que la energía de unión del ADP (+Pi) contribuye energéticamente con el flujo de protones por F_0 para impulsar la liberación del ATP recién sintetizado. Se ha propuesto que la unión del ADP y el flujo de protones por F_0 se alternan de manera coordinada para que F_1 y F_0 se acoplen al máximo durante la síntesis de ATP (9).

FUNCIÓN DE LAS ATP SINTETASAS

Las F_0F_1-ATP sintetasas pueden funcionar ya sea como sintetasas o como hidrolasas. Por ejemplo, en el caso de las bacterias fotosintéticas, la actividad fisiológica de esta enzima es la producción del ATP necesario para que la célula lleve a cabo sus procesos metabólicos. En tanto que en las bacterias anaeróbicas, como *Lactobacillus casei,* la reacción de hidrólisis es muy importante ya que estas bacterias utilizan el ATP generado por la glucólisis para formar un gradiente electroquímico de protones; el cual a su vez es empleado para el transporte activo de iones y metabolitos.

Con base en lo anterior, una de las preguntas que surgen es: ¿cómo se regula la F_0F_1-ATP sintetasa de las bacterias para funcionar ya sea en el sentido hidrolítico o en el sintético? En las bacterias fotosintéticas, la transición de luz a oscuridad ocasiona una disminución en la actividad de las enzimas de la cadena de transporte de electrones fotosintética y por tanto una disminución del gradiente electroquímico de protones. Esto, a la vez que disminuye la síntesis de ATP, tendería a ocasionar un aumento de su hidrólisis. Sin embargo, su actividad de ATPasa es difícilmente detectable en condiciones de oscuridad, a semejanza de lo que sucede con la enzima de

Figura 3. Mecanismo catalítico de cambio de unión para la síntesis de ATP. En este esquema los 3 sitios catalíticos están en un instante determinado en 3 diferentes conformaciones. En la conformación O el sitio está vacío, en tanto que en las conformaciones L y T los sitios unen con baja y alta afinidad a los sustratos, respectivamente. La unión de sustratos (ADP y Pi) en un sitio catalítico y el flujo de protones inducen cambios de afinidad simultáneos en los tres sitios que producen la liberación del ATP recién sintetizado (ver texto). Modificado de Cross, R. L. (1980) Annu Rev Biochem *50*: 687.

cloroplasto (CF_0F_1). En el caso de los cloroplastos, donde la CF_0F_1 podría hidrolizar durante la noche al ATP fotosintetizado durante el día, existe un mecanismo fisiológico que en la obscuridad induce un puente disulfuro intramolecular en la subunidad γ del sector F_1 que detiene la actividad hidrólitica. Al re-establecerse la iluminación, se reactiva la síntesis de ATP al ser reducida la enzima con tiorredoxinas; las cuales son a su vez reducidas por la cadena de transporte de electrones fotosintética vía la ferredoxina y la ferredoxina-tiorredoxina reductasa (10). Por otro lado, en eubacterias no fotosintéticas, como *E. coli*, existe otro mecanismo de inhibición de la actividad de ATPasa en el cual la subunidad ε del sector F_1 funciona como un inhibidor intrínseco regulado por nucleótidos (11).

De manera similar, las mitocondrias de eucariotos contienen una proteína (IF_1) diferente a la subunidad ε que inhibe la actividad hidrolítica de manera dependiente del potencial electroquímico de protones, ya que cuando este potencial es alto la inhibición ejercida por esta proteína disminuye (12). Por esto mismo, es de interés conocer qué tipos de mecanismos de regulación existen en bacterias cuyos antecesores dieron origen a las mitocondrias, al parecer, de manera simbiótica. Una de estas bacterias es *Paracoccus denitrificans* en la cual se ha demostrado que la actividad sintética (1-2 μmol (min mg de proteína)$^{-1}$) de la F_0F_1-ATP sintetasa en membranas aisladas es aproximadamente mil veces mayor a la actividad de hidrólisis (13).

Resultados de nuestro laboratorio muestran que, de manera similar a las enzimas bacterianas y mitocondrial, en la regulación de la F_0F_1-ATPasa de *P. denitrificans* (PdF_0F_1) está fuertemente implicada la únión-disociación del inhibidor Mg-ADP en uno de los sitios catalíticos; la energización de la membrana; la unión de oxianiones como fosfato, bicarbonato y sulfito; y el grado de exposición de alguna(s) subunidad(es) inhibitoria(s) (Tabla II) (14).

TABLA II

MECANISMOS DE REGULACIÓN DESCRITOS DE LA F_0F_1-ATPASA DE BACTERIAS

EFECTOR	EFECTO	MECANISMO PROPUESTO
subunidad ε (*E. coli*)	inhibición de la actividad de ATPasa	disminución de la velocidad de rotación de la subunidad γ, lo que a su vez controla cambios de conformación en los sitios catalíticos (3).
subunidad ε (*E. coli*)	inhibición de la actividad de ATPasa en el sitio de alta afinidad por ATP	disminuye la liberación de fosfato del sitio de alta afinidad de la enzima (16).
subunidad ε (bacteria PS3)	inhibición de la actividad de ATPasa	retraza la unión del ATP a la enzima (17).
unión de ATP a sitios no catalíticos (bacteria PS3)	incremento en la actividad de ATPasa	induce la liberación del Mg-ADP que se une fuertemente a uno de los sitios no catalíticos (12).
aniones (sulfito, fosfato) *P. denitrificans*	incremento en la actividad de ATPasa	induce cambios de conformación que favorecen la disociación del Mg-ADP (11).

SITIOS DE UNIÓN A NUCLEÓTIDOS

En la estructura mitocondrial se observan 6 sitios de unión a nucleótidos localizados en las interfases de las subunidades α/β. Tres de estos sitios son catalíticos y se localizan predominantemente en las subunidades β, en tanto que los sitios no catalíticos están principalmente ubicados en las subunidades α.

Los sitios catalíticos son heterogéneos en su estructura debido a que cada una de las subunidades β interactúa con diferentes segmentos de las subunidad γ, δ y ε. En la estructura cristalográfica del sector F_1 de mitocondria de bovino, se observa que estos sitios están ocupados por diferentes nucleótidos, esto es, un sitio contiene un análogo no hidrolizable del ATP; un segundo sitio contiene Mg-ADP y un tercer sitio se encuentra vacío (revisado en (1)).

POSIBLE FUNCIÓN DE LOS SITIOS NO-CATALÍTICOS EN LA ACTIVIDAD HIDROLÍTICA. MODULACIÓN POR EL Mg-ADP

La función de los sitios no-catalíticos no está completamente clara. Por ejemplo, se ha mostrado que una preparación del sector F_1 de *E. coli*, modificada mediante mutagénesis dirigida para reducir drásticamente su capacidad de unión de nucleótidos en los sitios no catalíticos, aún es capaz de hidrolizar de manera significativa al ATP (15); sugiriendo que los sitios no-catalíticos no son esenciales para la hidrólisis.

Sin embargo, se ha demostrado un papel importante de estos sitios a partir de la determinación de la actividad de ATPasa en una enzima mutante proveniente de la bacteria termofílica cuyos sitios no-catalíticos no pueden unir nucleótidos. Esto es, en el complejo $\alpha_3\beta_3\gamma$ de esta mutante sólo se observó una fase inicial de alta actividad la cual se detiene completamente después de aproximadamente 30 seg., cuando una molécula de Mg-ADP se une a una molécula de enzima (16). Esto indica que la unión del ATP a los sitios no-catalíticos es esencial para liberar el Mg-ADP inhibitorio del sector F_1 y que su actividad hidrolítica sea continua.

De manera interesante, esta misma mutante es capaz de sintetizar ATP a una velocidad semejante a la de la enzima silvestre (17). Estos datos implican que la unión del ATP a los sitios no-catalíticos no es esencial para la síntesis, pero sí para la hidrólisis continua de ATP. Por lo tanto, como cabría esperar de su papel como substrato en la síntesis de ATP, el Mg-ADP inhibe solamente la hidrólisis.

PARTICIPACIÓN DE LA SUBUNIDAD ε EN EL CONTROL DE LA HIDRÓLISIS DE ATP. POSIBLES MECANISMOS INHIBITORIOS

Una de las subunidades de la porción F_1 que tiene gran influencia en la actividad catalítica de la ATP sintetasa en bacterias, es la subunidad ε. Esta subunidad es el componente de menor tamaño de las F_0F_1-ATP sintetasas, con una masa molecular de 6 a 17 KDa y se encuentra en todas las ATP sintetasas de bacterias conocidas, excepto en la enzima de *Clostridium pasteurianum* (2).

Se ha demostrado que la proteólisis parcial de los primeros 30 aminoácidos de esta subunidad conduce a un incremento en la actividad hidrolítica de la enzima de *E. coli* (revisado en (11)). Kato-Yamada y col. encontraron que una mutante de la bacteria termofílica PS3, la cual carece de una parte del dominio amino terminal, muestra una cinética de hidrólisis de ATP similar a la obtenida por la enzima desprovista de la subunidad ε; el efecto de esta subunidad en la hidrólisis de ATP es el mismo tanto en la porción soluble (F_1) como en la enzima completa (F_0F_1) (18).

La actividad hidrolítica del sector F_1 de *E. coli* y la bacteria termofílica PS3 a los que se les han eliminado la subunidad ε, es de 5 a 10 veces mayor a la del sector completo respectivo (18). Cinéticamente se ha encontrado que la presencia de esta subunidad disminuye significativamente la liberación de productos, en particular del fosfato inorgánico del sitio catalítico de alta afinidad de la enzima (19). Por otro lado, el curso temporal de hidrólisis de una baja concentración de sustrato (50 μM) por el sector F_1 de la bacteria termofílica muestra un retraso de varios minutos. Este retraso puede ser interpretado como el tiempo necesario para que la subunidad ε se disocie del complejo o cambie de conformación. Con relación a esto, se sabe que la subunidad ε de la bacteria termofílica permanece unida al sector F_1 durante la catálisis y que la presencia de esta subunidad ocasiona un retraso en la unión del sustrato a la enzima que es

paralelo al retraso observado en la hidrólisis de ATP (20); por lo que durante este retraso la subunidad ε experimenta un cambio de conformación que favorece la catálisis.

Otros experimentos han mostrado que esta subunidad está involucrada en el ensamblaje correcto del sector F_0 con el sector F_1 y en la comunicación conformacional entre las subunidades α/β con la subunidad γ. Esto implica que su papel se extiende desde la biogénesis de la enzima, al acoplamiento y la inhibición de la hidrólisis.

Se sabe que la subunidad ε de la enzima de *E. coli* tiende a disociarse del sector F_1 durante la hidrólisis debido a posibles cambios de conformación. Wilkens y Capaldi (11) han mostrado que la subunidad ε tiene al menos dos estados conformacionales diferentes, los cuales son evidenciados por su susceptibilidad a la hidrólisis con tripsina. Esto es, cuando el sector F_1 se tripsiniza en presencia de ATP-EDTA (lo que representa el estado activo de la enzima), la subunidad ε se degrada más rápidamente que cuando la proteólisis se efectúa en presencia de Mg-ADP (que representa el estado inhibido de la enzima) (11). El sector F_1 de *E. coli* (9) y la F_0F_1-ATP sintetasa de membranas aisladas de *P. denitrificans* (14) también aumentan su actividad hidrólitica cuando son sometidas a una tripsinización limitada.

El retraso mostrado en la actividad hidrólitica por la F_1F_0-ATP sintetasa de la bacteria termofílica PS3 sólo es evidente a bajas concentraciones de sustrato, lo que sugiere que la subunidad ε es parte muy importante de un sistema regulador de estas enzimas bacterianas. Este sistema puede funcionar cuando hay déficit de nutrientes y ocurre una disminución en la concentración de ATP; además, la presencia de esta subunidad tendería a proteger a las células de la actividad hidrolítica de los sectores F_1 que pudiesen estar disociados de la membrana.

Aunque la subunidad ε no se observa en la estructura tridimensional del sector F_1 de *E. coli*, su estructura se ha determinado mediante estudios de resonancia magnética nuclear de la subunidad purificada. Esta subunidad tiene 2 dominios: el segmento amino-terminal está formado por 10 hojas beta plegadas ("*beta sandwich*") y el segmento carboxilo terminal se encuentra constituido por dos hélices antiparalelas conectadas por una asa. El segmento carboxilo terminal se asocia al menos con una subunidad α y 2 subunidades β y el segmento amino terminal interactúa con la subunidad γ y el oligómero de las subunidades c (11).

Con la introducción de puentes disulfuro intrasubunidad, se ha mostrado que al unir covalentemente ambos dominios (α y β) de la subunidad ε, se incrementa la actividad de ATPasa (19), indicando que al activar la hidrólisis del ATP, la subunidad ε se desplaza como una unidad sin separar sus dominios.

Lo expuesto indica de manera inequívoca el papel inhibitorio de la subunidad ε en la hidrólisis de ATP. El mecanismo inhibitorio de esta subunidad puede estar asociado a su papel como componente del rotor γ/ε/c de la enzima o a su interacción directa con la subunidad β (3). Por lo tanto, una posibilidad es que durante la hidrólisis o síntesis de ATP, la subunidad ε cambie su orientación; manteniendo la interacción entre sus dominios y que modifique la velocidad de rotación de la subunidad γ y de este modo controle los cambios de conformación necesarios en los sitios catalíticos para que se efectúe la hidrólisis o síntesis de ATP.

PAPEL DE LA ENERGIZACIÓN DE LA MEMBRANA Y DE LOS ANIONES EN LA HIDRÓLISIS DE ATP

Las primeras evidencias del papel de la energización de la membrana en la activación de la enzima se obtuvieron con membranas internas mitocondriales invertidas, cuya actividad hidrolítica se incrementó al energizar las membranas con sustratos oxidables (12).

De manera similar, cuando las preparaciones membranales (cromatóforos) de las bacterias fotosintéticas como *Rhodobacter capsulatus* son iluminadas, la actividad hidrolítica se incrementa de 2 a 3 veces. Esta estimulación se debe al aumento en el gradiente electroquímico de protones (indicador del estado de energización de una membrana transductora de energía) originado por el bombeo de protones de la cadena de transporte de electrones fotosintético. Como se sabe, este gradiente

electroquímico tiene dos componentes: el gradiente eléctrico y la diferencia de pH a través de la membrana, los cuales tienen efectos aditivos en la activación de la hidrólisis por la enzima de esta bacteria. Un fenómeno semejante se observa con la F_0F_1-ATP sintetasa de *P. denitrificans* (una bacteria del suelo) ya que la actividad hidrolítica se incrementa mediante la energización de la membrana inducida por la oxidación de succinato (14).

Por otra parte, existen múltiples estudios que demuestran el papel de los aniones, como el fosfato, en esta actividad enzimática. Por ejemplo, se sabe que en el complejo $\alpha 3\beta 3\gamma$, aislado de la bacteria termofílica, el fosfato permite que la actividad hidrolítica sea continua (21); en tanto que en membranas aisladas de *P. denitrificans*, el fosfato y otros oxianiones como el sulfito, incrementan la actividad hidrolítica de manera significativa (14).

El mecanismo por el cual los oxianiones activan la hidrólisis de ATP aún no está completamente claro. A este respecto, evidencia obtenida en nuestro laboratorio con membranas aisladas de *P. denitrificans* muestra que el sulfito, al unirse a la F_0F_1-ATP sintetasa en un sitio específico para aniones, disminuye la inhibición inducida por Mg-ADP (14) además de que incrementa la energización de la membrana, ya que en la presencia de este anión, el gradiente de pH inducido por la hidrólisis de ATP es significativamente más alto que en su ausencia. Este último fenómeno se ha descrito como "autoactivación" de la ATPasa.

Un aspecto interesante de la activación de la hidrólisis de ATP en *P. denitrificans*, es el hecho de que la energización de la membrana y el sulfito inducen diferentes niveles de actividad. Este efecto lo hemos interpretado en el sentido de que ambos factores inducen dos estados activos diferentes de la enzima. La evidencia que sugiere la propuesta anterior es: 1) en presencia de sulfito, la tripsina induce un incremento inmediato de la hidrólisis de ATP, que es significativamente mayor al ejercido por la tripsina en presencia de succinato; 2) la activación inducida por succinato es menos sensible a inhibición por ADP e inhibidores que se unen al sector F_0, como la oligomicina y venturicidina (14). Como se muestra en la figura 4, un aporte novedoso e interesante de estos experimentos es que, por primera vez, se ha encontrado un efecto estructural de los aniones en la activación de la F_0F_1-ATP sintetasa. Esto es, en la presencia de los oxianiones se exponen alguna(s) de la(s) subunidad(es) inhibitorias de la enzima a la acción de la proteólisis por tripsina. Tales resultados abren la posibilidad de estudiar la identidad de la(s) subunidad(es) que los aniones y la energización de la membrana exponen. Por lo descrito hasta aquí, la subunidad ε surge como principal candidato. Así mismo, se podrá estudiar el posible papel de los nucleótidos, como el ADP y ATP, en la exposición de las subunidades inhibitorias de la enzima. Estos experimentos están actualmente en curso en nuestro laboratorio.

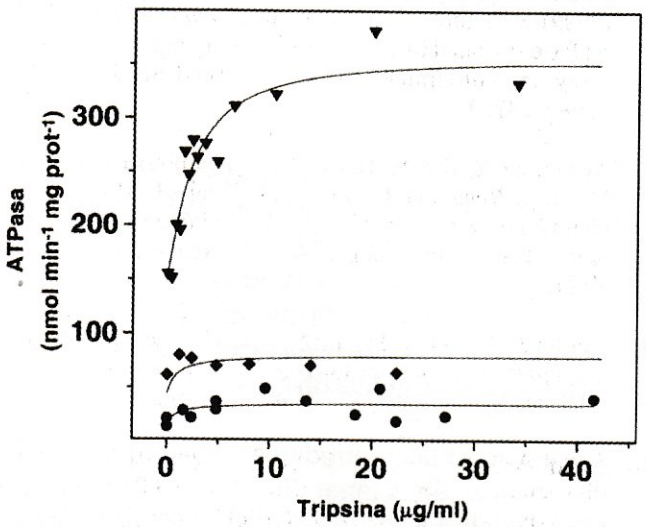


Figura 4. Activación de la ATPasa de *P. denitrificans* por tripsina. Las vesículas invertidas fueron pre-incubadas a 40°C durante 2 min. y la reacción fue iniciada con la adición de 2 mM de ATP y 10 seg después las concentraciones de tripsina indicadas. (●) control; (◆) 0.5 mM de succinato; (▼) 1.6 mM de sulfito (Tomado de ref. 14).

REFERENCIAS

1. Boyer P D (1997) The ATP synthasea splendid molecular machine. Annu Rev Biochem *66*: 717-749.

2. Clarke DJ, Fuller FM y Morris JG (1979) The proton translocating adenosine triphosphatase of the obligately anaerobic bacterium *Clostridium pasteurianum*. 1. ATP phosphohydrolase activity. J Bacteriol *179*: 1714-1720.

3. Capaldi RA, Schulenberg B, Murray J y Aggeler R (2000) Cross-linking and electron microscopy studies of the structure and functioning of the *Escherichia coli* ATP synthase. J Exp Biol *203*: 29-423.

4. Hausrath AC, Grüber G, Matthews B y Capaldi RA (1999) Structural features of the *Escherichia coli* F_1-ATPase revealed by a 4.4 Å resolution map obtained by x-ray crystallography. Proc. Natl Acad Sci USA *95*: 13697-13702.

5. Sambongi Y, Iko Y, Tanabe HO, Iwamoto-Kihara A, Ueda, Y, Yanagida T, Wada Y y Futai M (1999) Mechanical rotation of the c subunit oligomer in ATP synthase (F_0F_1): direct observation. Science *286*: 1722-1724.

6. García JJ y Capaldi RA (1998) Unisite catalysis without rotation of the γ-ε domain in *Escherichia coli* F_1-ATPase. J Biol Chem *273*: 15940-15945.

7. Souid A-K y Penefsky HS (1995) Energetics of ATP dissociation from the mitochondrial ATPase during oxidative phosphorylation. J Biol Chem *270*: 9074-9082.

8. García JJ, Gómez-Puyou A, Maldonado E y Tuena de Gómez-Puyou M (1997) Acceleration of unisite catalysis of mitochondrial F_1-adenosinetriphosphatase by ATP, ADP and pyrophosphate. Hydrolysis and release of the previously bound P[γ-^{32}P]. Eur J Biochem *249*: 622-629.

9. García JJ (2000) The F_0F_1-ATP synthase: binding energy, coupling, and rotational catalysis. En: Recent Research Developments in Bioenergetics. Editor: Pandalai SG. Transworld research Network. En prensa.

10. Schwarz O, Schürmann P y Strotmann H (1997) Kinetics and thioredoxin specificity of thiol modulation of the chloroplast H^+-ATPase. J Biol Chem *272*: 16924-16927.

11. Wilkens S y Capaldi RA (1998) Solution structure of the ε Subunit of the F_1-ATPase from *Escherichia coli* and interactions of this subunit with β subunits in the complex. J Biol Chem *273*: 26645-26651.

12. Martins OB, Gómez-Puyou A y Tuena de Gómez-Puyou M (1988) Properties and regulation of the H^+-ATP synthase of mitochondria. Biophys Chem *29*: 111-117.

13. Pérez JA y Stuart SJ (1990) Kinetics of oxidative phosphorylation in *Paracoccus denitrificans*. 2. Evidence for a kinetic and thermodinamic modulation of F_0F_1-ATPase by the activity of the respiratory chain. Biochemistry *29*: 10503-10518.

14. Pacheco-Moisés F, García JJ, Rodríguez-Zavala JS y Moreno-Sánchez R. (2000) Sulfite and membrane energization induce two different active states of *Paracoccus denitrificans* F_0F_1-ATPase. Eur J Biochem *267*: 993-1000.

15. Weber J, Bowman C, Wilke-Mounts S y Senior AE (1995) α-aspartate 261 is a key residue in noncatalytic sites of *Escherichia coli* F_1-ATPase. J Biol Chem *270*: 21045-21049.

16. Matsui T, Muneyuki E, Honda M, Allison WS, Dou C y Yoshida M (1997) Catalytic activity of the α3β3γ complex of F_1-ATPase without noncatalytic nucleotide binding site. J Biol Chem *272*: 8215-8221.

17. Bald D, Amano T, Muneyuki E, Pitard B, Rigaud JL, Kruip J, Hisabori T, Yoshida M y Shibata M (1998) ATP synthesis by F_0F_1-ATP synthase independent of noncatalytic nucleotide binding sites and insensitive to azide inhibition. J Biol Chem *273*: 865-870.

18. Kato-Yamada Y, Bald D, Koike M, Motohashi K y Yoshida M (1999) ε subunit, an endogenous inhibitor of bacterial F_1-ATPase, also inhibits F_0F_1-ATPase. J Biol Chem *274*: 33991-33994.

19. Dunn SD, Zadorozny VD, Tozer RG y Orr LE (1987) ε subunit of *E. coli* F_1-ATPase: effects on affinity for aurovetin and inhibition of product release in unisite ATP hydrolysis. Biochemistry *26*: 4488-4493.

20. Kato Y, Matsui, T, Tanaka, N, Muneyuki, E, Hisabori T y Yoshida M (1997) Thermophilic F_1-ATPase is activated without dissociation of an endogenous inhibitor, ε subunit. J Biol Chem *272*: 24906-24912.

21. Bald D, Muneyuki E, Amano T, Kruip J, Hisabori T y Yoshida M (1999) The noncatalytic site-deficient α3β3γ subcomplex and F_0F_1-ATP synthase can continuously catalyse ATP hydrolysis when Pi is present. Eur J Biochem *262*: 563-568.

BEB *19*(4): 212-218

PAPEL ESENCIAL DE LAS ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO (ERO) EN LA TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES

Fernando Lledías. Departamento de Bioquímica, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México. Apartado Postal 70-600, 04510, México, D.F. Teléfono 5622-5655, Fax 5622-5630 Correo electrónico: flledias@ifisiol.unam.mx

RESUMEN

Actualmente se acepta ampliamente la idea de que ligandos extracelulares activan señales nucleares a través de una cascada de interacciones proteína-proteína. Muchas de estas vías han sido examinadas finamente y conforman un importante marco por el cual podemos entender los procesos en los que intervienen. Datos recientes de la literatura, sobre todo de los últimos cinco años, indican que muchos de los ligandos extracelulares generan y en ciertos casos requieren de las Especies Reactivas de Oxígeno (ERO) para transmitir exitosamente su señal al núcleo. Estos datos anuncian un nuevo mecanismo de señalización independiente de aquel basado únicamente en interacciones protéicas. En esta revisión se incluyen algunos ejemplos relevantes en los que las ERO tienen un papel central en la transmisión de señales.

PALABRAS CLAVE: Especies Reactivas de Oxígeno (ERO), Transducción de señales.

ABSTRACT

Today, the idea that extracellular ligands activate nuclear signals through a cascade of protein-protein interactions is well accepted. Many pathways have been finely dissected and they conform an important frame to understand the processes in which they are involved. Recent data, mainly from the last five years, indicate that extracellular ligands generate and require Reactive Oxygen Species (ROS) to successfully transmit the signal to the nucleus. Such data show a different signal mechanism from the one based on protein interactions. In this review, relevant examples in which ROS have a central role in signal transmission are included.

KEY WORDS: Reactive Oxygen Species, Signal transduction.

INTRODUCCIÓN

El proceso que lleva un mensaje extracelular al ambiente intracelular a través de la membrana citoplásmica es llamado transducción de señales o señalamiento celular. Las señales son relevadas hasta sus blancos por medio de varios componentes como receptores, acopladores, efectores, segundos mensajeros, proteína cinasas y fosfoproteínas. El señalamiento eventualmente conduce a la inducción de actividades biológicas tales como la contracción muscular, la expresión genética, el crecimiento celular, la neurotransmisión, etc. La fosforilación de proteínas, es en muchos de los casos estudiados hasta ahora, el penúltimo componente de la transducción de una señal que dispara una acción biológica. Recientemente las especies reactivas de oxígeno (ERO) han aparecido en escena como importantes participantes en los procesos de transducción de señales. Este trabajo muestra algunos ejemplos en los que las ERO median el señalamiento.

¿QUÉ SON LAS ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO (ERO)?

Las especies reactivas de oxígeno (ERO) son derivados de oxígeno más reactivos que el dioxígeno (O_2) en su estado basal (1). La molécula de dioxígeno es un birradical libre, esto es, posee dos electrones no apareados; cada uno localizado en un orbital π^* de antiunión diferente (Fig. 1). En esta molécula los electrones no apareados poseen giros paralelos, de tal manera que para que el oxígeno oxide a otro átomo o molécula, tiene que aceptar un par de electrones con giro antiparalelo (limitación del giro) o aceptar un solo electrón a la

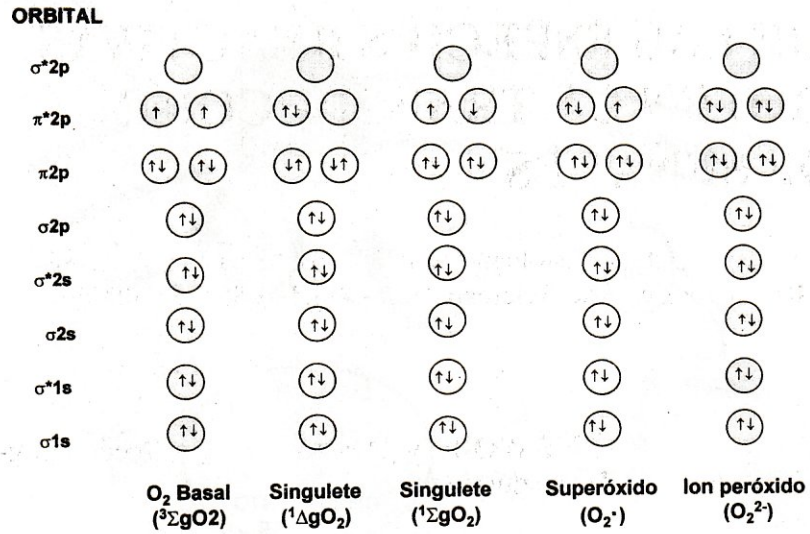


Figura 1. Estructura electrónica de las especies reactivas generadas a partir de la molécula de dioxígeno. Figura modificada de Halliwell y Gutteridge (1).

vez. Si un solo electrón se adiciona al dioxígeno, éste se localizará en uno de los orbitales π* de antiunión y el producto será el radical superóxido (O_2·). De la adición de un electrón más, resultará el ion peróxido que es rápidamente protonado en el medio celular y da lugar al popular peróxido de hidrógeno o agua oxigenada (H_2O_2). Ésta en presencia de fierro reducido (Fe^{2+}) forma al radical hidroxilo (·OH), en la llamada reacción de Fenton. En el ion peróxido, los dos átomos de oxígeno se encuentran unidos por un solo enlace débil; de tal forma que al aceptar un par de electrones extra, este enlace se elimina totalmente. De la protonación de este producto se genera agua. El dioxígeno singulete ($^1O_2$) es una forma más reactiva que el oxígeno molecular basal y a diferencia de las mencionadas anteriormente, no es producto de su reducción parcial. El $^1O_2$ puede generarse mediante una entrada de energía, misma que aparea los electrones de los orbitales π* de antiunión ($^1\Delta gO_2$) o cambia el giro de uno de ellos ($^3\Sigma g$ -O_2) (Fig. 1) (1).

De la figura 1 se desprende que las ERO, como su nombre lo indica, son más reactivas que el dioxígeno molecular en su estado basal además de que su vida media es muy corta. Por su efímera existencia y su cambiante naturaleza química que depende de las condiciones de óxido-reducción (redox) del medio circundante, resultaría difícil pensar que estas especies químicas se incorporaran en un proceso tan específico como la transducción de señales. Sin embargo, actualmente contamos con evidencia experimental, cada día en aumento, sobre la participación de las ERO en procesos celulares centrales como la secreción de factores de crecimiento; el transporte de iones; la transcripción y la apoptosis. Para el entendimiento fino de una ruta en específico se requiere la identificación de las proteínas o procesos involucrados en la generación de las moléculas de señalamiento (las ERO), las proteínas que éstas activan o inhiben, las bases moleculares que desencadenan el evento, la respuesta fisiológica resultante, así como la regulación de la especificidad en cada nivel. En este trabajo se incluyen ejemplos recientes que ilustran algunas de estas fases de entendimiento y el papel esencial de las ERO en la transducción de señales. Estos datos en su conjunto harán que sean reconsiderados varios de los modelos de los procesos fundamentales de la célula.

REGULACIÓN REDOX DURANTE LA ACTIVACIÓN DE LOS LINFOCITOS T

La proliferación de los linfocitos T es una parte central de la respuesta inmune celular. En condiciones fisiológicas, la proliferación se inicia con el reconocimiento del antígeno por el receptor del linfocito T (TCR) en el contexto del complejo principal de histocompatibilidad. El complejo antígeno-TCR dispara una compleja y ordenada serie de eventos bioquímicos previos al inicio del ciclo celular que culminan con la división. En su trabajo, Hunt y colaboradores (2) muestran que después de la estimulación mitogénica, los linfocitos T experimentan una "explosión oxidativa". La adición de ciertos antioxidantes no sólo suprime esta respuesta, sino que también inhibe la proliferación de las células deteniéndolas en la fase G_1 del ciclo celular. Estos datos sugieren a las ERO como agentes de señalamiento durante el inicio del ciclo. Mediante el uso de antioxidantes identifican a la cinasa Erk2 como la molécula que responde a la señal oxidativa durante la activación del linfocito T. La Erk2 es una proteína cinasa activada por mitógeno (miembro de la familia de las MAP cinasas o MAP´s o MAPK´s) que regula directamente junto con Erk1 la función de los factores de trans-

cripción Nf-κB y AP-1 cuyas actividades son necesarias para la progresión del ciclo celular. Estas observaciones dan evidencia del papel que tiene la generación intracelular de ERO como participante de un mecanismo de regulación durante el inicio del ciclo celular y establece un vínculo entre el señalamiento oxidativo y otros aspectos de la vía que son activados en respuesta a la activación mitogénica.

EL SUPERÓXIDO EN LA VÍA DE RAS

De manera general se les ha atribuido a las ERO un gran potencial carcinogénico y han sido asociadas con la promoción del estado tumoral. De hecho, en varios tipos celulares transformados se conoce la sobreproducción de las ERO pero no se conoce la fuente de las mismas y su contribución al fenotipo.

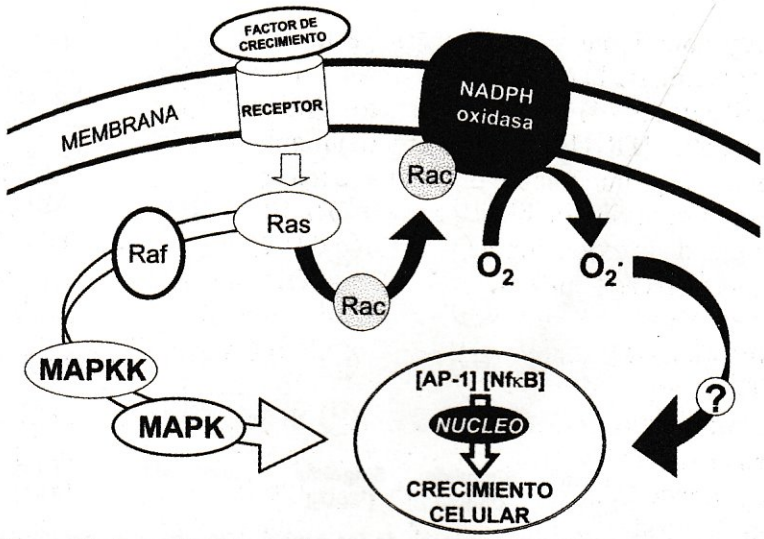


Figura 2. La señal de crecimiento celular de Ras llega al núcleo a través de las MAP cinasas (MAPKK y MAPK) así como por el radical superóxido. Figura modificada de Pennisi (13).

Ras, una guanosina trifosfatasa (GTPasa), es un importante regulador en la vía de transducción de señales que controla al crecimiento y a la diferenciación celulares. Su importancia crítica en el control del crecimiento se describió cuando se identificaron en ciertos cánceres humanos a oncogenes de Ras perpetuamente activados. Experimentos recientes en levadura, *Caenorabditis elegans* y *Drosophila* establecieron que Ras tiene una función universal en el control de la decisión celular para crecer o diferenciarse. Hasta ahora en todas las células eucariotas analizadas, Ras controla una cascada de proteína-cinasas de serina y treonina activadas por mitógenos (MAPK´s) que subsecuentemente translocan la señal al núcleo en donde fosforilan factores de transcripción clave. Sin embargo, Goldschmidt-Clermont (3) con su grupo de trabajo, sugieren una ruta independiente de la anterior, en donde el superóxido ($O_2^{\cdot}$), ayuda a Ras en la transmisión hacia el núcleo de los mensajes que estimulan el crecimiento. En fibroblastos, el $O_2^{\cdot}$ es producido por la misma enzima membranal que las células fagocíticas del sistema inmune emplean para generar las ERO y atacar a los invasores patógenos: la NADPH oxidasa. En la vía de señalización, Ras activa a la proteína Rac que forma un complejo molecular que incluye a la NADPH oxidasa. Ésta, una vez activada, añade electrones al oxígeno para producir al superóxido ($O_2^{\cdot}$) (Fig. 2). No se conoce hasta ahora el mecanismo por el cual la señal de Ras llega finalmente al núcleo; sin embargo una propuesta es que el superóxido o alguna especie derivada del mismo, oxida cisteínas blanco con la formación consecuente de puentes disulfuro cisteína-cisteína que alteran la estructura protéica de algunas cinasas clave. Las evidencias de este trabajo sitúan firmemente al superóxido dentro de la ruta de Ras, una de las rutas celulares más importantes para la estimulación del crecimiento.

EL SUPERÓXIDO EN LA REGULACIÓN DE LA FOSFATASA PTP-1B

En la regulación del ciclo celular y en la transducción de señales, las cascadas cíclicas que incluyen pasos reversibles de fosforilación de tirosinas juegan un papel muy importante debido en parte a su gran capacidad para integrar información biológica y para la amplificación de la señal. Barret y colaboradores (4) proponen un mecanismo de transducción de señales mediado por el superóxido ($O_2^{\cdot}$) y el glutatión en su forma reducida (GSH), para la regulación de la fosfatasa de tirosina PTP-1B. El tratamiento de células no fagocíticas con factores de crecimiento, induce la producción intracelular de ERO y la elevación del nivel de proteínas fosforiladas en resíduos de tirosina. Esto puede cumplirse ya sea al activar a las cinasas de tirosina y/o al inactivar a las fosfatasas de tirosina (PTP´s). La PTP-1B es una fosfatasa de tirosina

muy abundante y se sabe que se inactiva por la oxidación de la cisteína-215 de su sitio catalítico. Los autores (4) muestran *in vitro* que para inactivar a la PTP-1B, el O_2· es cinéticamente más eficiente y químicamente un oxidante más específico que el peróxido de hidrógeno (H_2O_2). El producto inicial de la oxidación de la cisteína-215 (CYS215) es un derivado sulfénico (CYS215-SOH en la Fig. 3) que puede oxidarse fácilmente a una forma sulfínica o sulfónica (CYS215-SO_2H o CYS215-SO_3H respectivamente en la Fig. 3) lo cual inactivaría la vía de manera irreversible. Sin embargo, la formación de estos productos es prevenida por la incorporación del glutatión reducido (GSH) al producto sulfénico, lo cual resulta en una PTP-1B/S-glutationada (CYS215-SSG en la Fig. 3) que puede ser reactivada por antioxidantes o bien por una tioltransferasa (Fig. 3). En este último caso, la vía queda provista de un mecanismo de reactivación eficiente y selectivo. Por otra parte, la reversibilidad de la inactivación es cuatro veces mayor para el superóxido que para el H_2O_2. Estructuralmente la cisteína-215 está rodeada por residuos cargados positivamente y constituyen el asa de unión para el grupo fosfato, pero también es razonable considerar a este sitio, dados estos resultados, como un buen atrayente para el O_2· cuya carga es negativa. Este mecanismo resulta biológicamente relevante dado que la forma glutationada de la PTP-1B se detectó en células de carcinoma humano al ser tratadas con el factor de crecimiento epidérmico (EGF). Dado que los sitios activos de las PTP´s comparten las mismas características estructurales, el mecanismo de regulación aquí propuesto podría aplicarse a toda la familia.

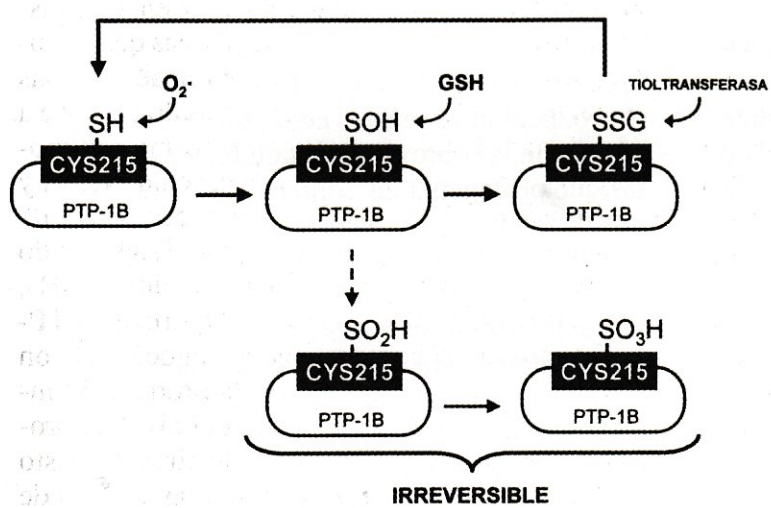


Figura 3. Mecanismo propuesto para la regulación de la fosfatasa PTP-1B por el superóxido. Ver texto para su explicación. Figura modificada de Barrett et al. (4).

EL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO COMO MEDIADOR EN LA MITOGÉNESIS DE MIOCITOS DE TRÁQUEA

El tratamiento de miocitos traqueales con H_2O_2, activa una serie de cinasas reguladas por señales extracelulares a través de la activación sucesiva de la proteína cinasa-C (PKC), Raf-1 y la proteína cinasa-1 activada por mitógeno (MAPK-1). Esto desde luego sugirió un esquema en el cual la estimulación oxidativa podía directamente efectuar la transducción de señales mitogénicas hacia el núcleo. Brar y colaboradores (5) han extendido estas observaciones al mostrar que el tratamiento de miocitos con antioxidantes reduce dramáticamente la proliferación celular en respuesta a la estimulación mitogénica con suero o el factor de crecimiento PDGF. Los antioxidantes también inhibieron la expresión de c-Fos, un gen de "respuesta temprana" que se regula por mitógenos en respuesta de la acción cooperativa de la PKC y por cinasas de serina y treonina activadas por mitógenos (MAP´s) y a su vez estimuladas por Ras y Raf. Finalmente, la estimulación de las células con suero, promueve un incremento significativo del superóxido liberado por los miocitos al medio. Estos resultados dan evidencia de que las ERO se generan directamente en respuesta a la estimulación mitogénica y que estas moléculas reactivas son fisiológicamente importantes en la señalización de los eventos que promueven la proliferación. No se conoce hasta ahora la ruta enzimática por la cual las ERO son producidas ni cual es su naturaleza química; sin embargo, indican que el tratamiento de las células con catalasa, pero no con superóxido dismutasa, previene la proliferación de los miocitos. Esto indica que la especie difusible importante para la señalización puede ser el H_2O_2.

EL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN LA ACTIVACIÓN DE LA PROTEÍNA CINASA/AKT POR LA ANGIOTENSINA II

La angiotensina II es una hormona hipertrófica y anti-apoptótica producida

en las células vasculares de músculo liso (CVML). Esta hormona fosforila a la cinasa/Akt, una enzima crítica en la ruta de sobrevivencia que protege a la célula de la apoptosis y está también involucrada en la síntesis de proteínas y en eventos cruciales de la respuesta hipertrófica. Griendling y su grupo de colaboradores (6) muestran que la angiotensina II estimula la generación de superóxido al activar la NADH/NADPH oxidasa. El superóxido producido es rápidamente dismutado a H_2O_2, este último causa eventualmente la fosforilación de la cinasa/Akt por un mecanismo redox. La sensibilidad redox de la cinasa se confirmó por la observación de que la adición de H_2O_2 exógeno estimula su fosforilación y que el tratamiento con catalasa o un inhibidor de la NADH/NADPH oxidasa impiden la fosforilación. Estos resultados muestran un avance en el mecanismo de señalamiento altamente selectivo y organizado que coordinado por las ERO, media la respuesta hipertrófica de las CVML por la angiotensina.

EL HIDROXILO EN LA RUTA DE SEÑALAMIENTO DE LA COLAGENASA INTERSTICIAL (MMP-1) Y LA ESTROMELISINA (MMP-3)

Se ha demostrado que la irradiación con luz ultravioleta B (UV B, $\lambda = 280 - 320$ nm) genera productos de la peroxidación de lípidos y al radical hidroxilo con posibles efectos como la formación de cáncer, el envejecimiento prematuro de la piel y otros estados patológicos. Estos daños son condicionados por la actividad de la cinasa N-terminal Jun-2, así como por Jun y Fos (que heterodimerizan para constituir al factor de transcripción AP-1), pasos clave en el control transcripcional de la colagenasa intersticial MMP-1 y de la estromelisina MMP-3. Tanto la colagenasa intersticial como la estromelisina son metaloproteasas involucradas en la degradación del tejido conectivo. Los eventos anteriores a la activación de la cinasa N-terminal Jun-2 propuestos por Scharffetter-Kochaner y colaboradores (7 y 8) son que la irradiación UV B induce en fibroblastos la formación del superóxido que es dismutado por la superóxido dismutasa a peróxido de hidrógeno; éste reacciona con el fierro (liberado de ferroproteínas severamente dañadas) en el sistema de la reacción de Fenton y genera al radical hidroxilo, que subsecuentemente inicia la peroxidación de lípidos. Esta señal, necesaria para que se presente el daño al tejido conectivo por la exposición a luz UV B, se integra a la vía de señalización de la proteinacinasa JNK2 que es la responsable de la regulación de la MMP-1 y la MMP-3. Las metaloproteasas y las ERO tienen un papel importante en los procesos de carcinogénesis y el fotoenvejecimiento cutáneo. De acuerdo con esta idea, MMP-1 y MMP-3, se sobrexpresan durante la invasión y la metástasis en una variedad de tumores de piel incluidos aquellos que no son del tipo de melanoma.

SECRECIÓN DE FACTORES INDUCIDOS POR TENSIÓN OXIDATIVA

En las paredes de los vasos sanguíneos (formados por las células endoteliales y las células vasculares de músculo liso) se ha reconocido a la tensión oxidativa como un posible causante de enfermedades vasculares entre las que se encuentran la hipertensión y la aterosclerosis. El incremento en las ERO puede ocurrir como una respuesta a cambios en el estado neurohormonal (activación del sistema renina-angiotensina), en los parámetros hemodinámicos (hipertensión) y en las interacciones célula-célula (decremento en la formación de óxido nítrico por el endotelio). Aunque los estudios recientes se han enfocado en los aspectos mecanísticos del incremento de las ERO, como la inducción o la activación de la NADPH oxidasa, existe un vacío en la investigación sobre las respuestas adaptativas que las células de las paredes de los vasos sanguíneos presentan para contender con la tensión oxidativa. El grupo de Berk (9) señala que un mecanismo lógico con el cual las células endoteliales y las células vasculares del músculo liso (CVML) responden a las ERO, es mediante la producción de señales autócrinas/parácrinas que aumentan la sobrevivencia celular o estimulan rutas que protegen a las células de los efectos dañinos de las ERO. En un estudio previo observaron que al tratar las CVML con LY83583 (un reactivo que produce superóxido intracelularmente) existe una activación bifásica de las cinasas ERK1/2 (una subfamilia de MAPK que tienen un papel importante en diferentes funciones celulares incluidas el crecimiento, la transformación, la diferenciación y la sobrevivencia posterior a la tensión). La primera fase de la activación depende de la proteína cinasa-C (PKC) y calcio, mientras que la segunda depende de la síntesis y secreción específicas de

factores denominados SOXF (Secreted Oxidative Stress-induced Factors). A partir de fracciones de medios condicionados que activan las ERK1/2, se identificaron dos factores: la HSP 90-α (que aporta alrededor del 50% de la activación tardía) y la ciclofilina B de entre 35 proteínas secretadas en presencia del LY83583. Es posible que la HSP 90-α (Heat Shock Protein 90-α) además de tener el posible papel canónico de asistir al plegamiento de las proteinas, también tenga una aportación en funciones de citoprotección, procesos antiapoptóticos y en la transducción de señales, funciones descritas en diferentes HSP´s de las CVML. Por otra parte datos recientes sugieren un papel importante para las ciclofilinas secretadas en la regulación del crecimiento celular y en la respuesta inflamatoria. Como una especulación, los autores proponen que la secreción de las SOXF tiene funciones parácrinas/autócrinas durante la tensión oxidativa para promover la sobrevivencia celular y/o iniciar los procesos de reparación tisular.

REGULACIÓN DE UNA RUTA: LA HEMO OXIGENASA-1

Un aspecto en realidad poco considerado en las publicaciones, en contraparte con la producción intracelular de las ERO, es su inactivación como parte de la señal. Así como la transducción de señales mediada por proteínas se basa en la fosforilación y desfosforilación de sus elementos, la mediada por ERO, debe basarse en la producción y reducción química de las mismas. Del balance entre las ERO y el poder reductor celular, resulta eventualmente la señal; a este respecto cabe destacar el trabajo de Tyrrel (10 y 11). La hemo oxigenasa-1 (HO-1) es una enzima catabólica que es fuertemente inducida en muchas células eucariotas como resultado de la activación transcripcional por distintos oxidantes como la luz ultravioleta A (UV A, λ = 320-380 nm). Probablemente el papel de la hemo oxigenasa en estas condiciones sea parte de una ruta de defensa para remover el hemo liberado por los oxidantes y evitar la producción del radical hidroxilo por la reacción de Fenton. En este trabajo se muestra que al igual que la luz UV A, el gene HO-1 es inducido fuertemente por el oxígeno singulete producido por un agente fotoactivo o de manera interesante, al disminuir los niveles del glutatión reducido que es el componente principal en el mantenimiento del estado redox celular. Por otra parte la eliminación del fierro por medio de agentes quelantes o la adición de atrapadores del oxígeno en singulete, suprimen la activación del gen. Estos datos muestran que la regulación del gen de la HO-1 depende del estado redox de la célula.

COMENTARIOS FINALES

La visión clásica de las ERO sólo como "villanos" altamente reactivos que destruyen indiscriminadamente a varios componentes biológicos, ha cambiado drásticamente debido a la evidencia experimental de su participación en la regulación de funciones fisiológicas como la transducción de señales. Los ejemplos citados en este trabajo brindan una idea sobre el avance en este campo, pero sin duda aún quedan aspectos por resolver en los distintos niveles para entender finamente las diferentes rutas de señalización. Uno de los mayores obstáculos para reconocer la ubicuidad y la relevancia fisiológica de las ERO en la transducción de señales, es la dificultad para determinar su producción, tránsito e inactivación celulares. Aunque han existido avances en este sentido al emplear técnicas como la espectroscopia de fluorescencia o la resonancia del espín del electrón (ESR) combinada con trampas de electrones (1 y 11) para resolver alguno de estos aspectos, la mayoría de los trabajos son descriptivos y se basan casi únicamente en el uso de antioxidantes que brindan datos indirectos que sólo sugieren cuál ERO está implicada en el proceso.

Un aspecto que resulta interesante es qué diferentes ERO producen el mismo efecto. Por ejemplo el factor Nf-κB se activa igualmente por peróxido de hidrógeno que por oxígeno singulete producido por fotosensibilización (12). Una posibilidad es que una ERO se convierta en otra en un ambiente redox particular y por ello tenga el mismo efecto, o bien que existan diferentes rutas de señalización para diferentes ERO con un mismo efecto lo cual brindaría redundancia en el sistema. Esto aunado al hecho de que la misma ERO esté involucrada en respuestas muy distintas, son puntos que esperan aclaración experimental. El uso de mutantes y de transfecciones estables de los miembros del sistema de producción de las ERO o en otros niveles de la ruta, sin duda resultará informativo.

Claramente se está en un estado aún temprano de entendimiento, pero sin duda el trabajo futuro al emplear enfoques múltiples, colocará al señalamiento basado en las ERO al lado de los mensajeros intra e intercelulares clásicos y descubrirá el intrincado sistema que ha evolucionado para adaptarlas en un nivel de regulación tan exquisito.

REFERENCIAS

1. Halliwell B y Gutteridge J (1989) Free Radicals in Biology and Medicine. Clarendon Press, Oxford, pp 10- 21.

2. Goldstone S y Hunt N (1997) Redox Regulation of the Mitogen Activated Protein Kinase Pathway During Lymphocyte Activation. Biochim Biophys Acta *1355*: 353-360.

3. Irani K, Xia Y, Zweier J, Sollot S, Der Ch, Fearone E, Sundaresan M, Finkel T y Goldschmidt-Clermont P (1997) Mitogen Signalling Mediated by Oxidants in Ras Transformed fibroblasts. Science *275*: 1649-1652.

4. Barret W, DeGnore J, Keng Y, Zhang Z, Yim M y Chock P (1999) Roles of Superoxide Radical Anion in Signal Transduction Mediated by Reversible Regulation of Protein-tyrosine Phosphatase 1B. J Biol Chem *274*: 34543-34546.

5. Brar S, Kennedy T, Whorthon A, Murphy T, Chitano P y Hoidal J. (1999) Requirement for reactive oxygen species in serum-induced and platelet-derived growth factor-induced growth of airway smooth muscle. J Biol Chem. *274*: 20017-20026.

6. Ushio-Fukai M, Alexander W, Akers M, Yin Q, Fujio Y, Walsh K y Griendling K (1999) Reactive Oxygen Species Mediate The Activation of Akt/Protein Kinase B by Angiotensin II in Vascular Smooth Muscle Cells. J Biol Chem *274*: 22699-22704.

7. Wenk J, Brenneissen P, Wlaschek M, Poswig A, Briviba K, Oberley T y Scharffetter-Kochanek K (1999) Stable Overexpression of Manganese Superoxide Dismutase in Mitochondria Identifies Hydrogen Peroxide as a Major Matrix-degrading Metalloprotease-1. J Biol Chem *274*: 25869-25876.

8. Brenneisen P, Wenk J, Klotz O, Wlaschek M, Briviba K, Krieg T, Sies H, y Scharffeter- Kochanek K (1998) Central Role Of Ferrous/Ferric Iron In the Ultraviolet B Irradiation-mediated Signalling Pathway Leading to increased Interstitial Collagenase (Matrix-degrading Metalloprotease MMP-1) and stromelysin-1 (MMP-3) mRNA Levels in Cultured Human Dermal Fibroblasts. J Biol Chem *273*: 5279-5287.

9. Liao D, Jin Z, Baas A, Daum, Gueter, Gygi S, Aebersold R y Berk B (2000) Purification and Identification of Secreted Oxidative Stress-induced Factors from Vascular Smooth Muscle Cells. J Biol Chem *275*: 189-196.

10. Tyrrel R (1997) Approaches to Define Pathways of Redox Regulation of a Eukaryotic Gene: The Heme Oxygenase-1 Example. Methods *11*: 313-318.

11. Tyrrel R (1999) Redox Regulation and Oxidant Activation of Heme Oxygenase-1. Free Rad Res *31*: 335-340.

12. Ryter S y Tyrrel R (1998) Singlet Molecular Oxygen: A Possible Effector of Eukaryotic Gene Expression. Free Rad Biol Med *24*: 1520-1534.

13. Pennisi E (1997) Superoxide Relays Ras Proteins Oncogenic Message. Science *275*: 1567-1568.

LA ESPECIALIDAD EN BIOQUÍMICA CLÍNICA DE LA FACULTAD DE QUÍMICA DE LA UNAM, A 10 AÑOS DE SU NACIMIENTO

María Dolores Lastra*, Felipe García Oliva**, Norma Castellanos*, Raquel Ortega* y Magdalena Oliva*.
* Departamento de Biología, Facultad de Química, UNAM. Ciudad Universitaria, México, D.F. 04510.
** Instituto de Geografía, Campus Morelia, UNAM.

RESUMEN

Se llevó a cabo una revisión sobre el desempeño de alumnos del posgrado de la Especialización en Bioquímica Clínica, Facultad de Química en la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Se analizan los datos de inscripción, abandono (deserción) y eficiencia terminal de dos períodos: 1989-1992 y 1993-1997. Los resultados muestran que el abandono disminuye en el segundo período (1993-1997); también en este lapso aumenta la eficiencia terminal de egresados. Se muestran cifras procedentes de un estudio longitudinal de egresados. Se realiza una reflexión sobre las cifras analizadas haciendo énfasis en los aspectos económicos, de certificación y de reconocimiento de los pares.

PALABRAS CLAVE: Educación, bioquímica clínica, estudios de posgrado.

ABSTRACT

We reviewed the development of the postgraduate program (specialization) in Clinical Chemistry of the Facultad de Química of the Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) in Mexico City. Registration, drop out and efficiency data for two periods: 1989-1992 and 1993-1997 are analyzed. Results showed that drop out (desertion) figures diminish in the second period (1993-1997) and that efficiency improves in this period (1993-1997). The present working locations of the graduates are presented. We analyze the conditions that originated these figures and emphasize the economic, peer recognition and professional certification aspects.

KEY WORDS: Education, clinical chemistry, postgraduate studies.

INTRODUCCIÓN

La Bioquímica Clínica como disciplina dedicada al estudio de las ciencias del laboratorio clínico, ha tenido un desarrollo y evolución muy importantes en todo el mundo. Especialmente las asociaciones internacionales de la química clínica como la Federación Internacional de Química Clínica, la Academia Norteamericana de Química Clínica y las Asociaciones Mexicanas de Química Clínica, se han preocupado por integrar a sus actividades los avances científicos y de supervisar el desempeño de los laboratorios y de sus profesionales (1, 2, 3, 4, 5).

La primera especialidad en este campo en el país se estableció en 1988 en la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) en colaboración con la Secretaría de Salud (SSA). Los convenios de colaboración se firmaron entre la Facultad de Química de la UNAM y la Jefatura de Enseñanza de la SSA, particularmente con los Institutos Nacionales de Salud a través de su Coordinador y sus Directores, así como con el Sistema Nacional para el Desarrollo Integral de la Familia (DIF) y hospitales de tercer nivel, como el Hospital Infantil de México, Federico Gómez y el Hospital Manuel Gea González. Los diferentes convenios se firmaron entre 1988 y 1990 (6).

El propósito de estos convenios fue el de asegurar una preparación formal y de alta calidad tanto en los aspectos académicos como en el ejercicio de actividades de laboratorio, además de la participación de profesores distinguidos de la Facultad de Química y de especialistas prestigiados de las instituciones de salud. Se hizo mucho énfasis en que la calidad de los egresados dependería del nivel de los maestros y tutores y del rigor del programa (6, 7). La orientación de este programa está

dirigida hacia la aplicación de los conocimientos del laboratorio clínico, ya que se forman especialistas que conozcan "el estado del arte" en estas ciencias.

Este programa lleva diez años de funcionar como un posgrado, teniendo una inscripción que oscila alrededor de diez alumnos por generación (127 alumnos a la fecha). La selección de los candidatos se hace habitualmente de entre 40 solicitudes y se realiza un riguroso examen de selección teórico-práctico con un estudio psicométrico; la calidad, tanto de los cursos como de los tutores se ha incrementado como puede comprobarse en los documentos de posgrado de 1989 y del actual. Lo anterior ha permitido lograr eficiencias de egreso y graduaciones elevadas (8).

La nueva organización de los estudios de posgrado en la UNAM ha llevado a una serie de reagrupaciones, dentro de las cuales el Comité del Programa de la Especialidad en Bioquímica Clínica de la Facultad de Química inició las actividades conducentes a definir y evaluar su situación dentro del contexto del nuevo posgrado (9, 10, 11). Esta especialidad se ha visto afectada, al igual que la totalidad de los estudios superiores universitarios, por la creación de este nuevo sistema en la UNAM que se presenta con conceptos modernos y una clara tendencia a la amplitud y a la universalidad (5, 9, 12).

El programa de la especialización de Bioquímica Clínica de la Facultad de Química presenta coincidencias de manera general en objetivos y contenido con el de Patología Clínica de la Facultad de Medicina de la UNAM. Sin embargo, esta última está dirigida a profesionales con el título de médico cirujano, siendo inaccesible a egresados de otras licenciaturas afines como los de la Facultad de Química y la Facultad de Ciencias de la UNAM, entre otras (13).

Se decidió analizar las cifras que arrojó un estudio actualizado sobre la especialización en Bioquímica Clínica, haciendo énfasis particular en el último período, de 1992 a la fecha. En el primer período (1988-1992) se contaba con becas del Sector Salud, situación que ya no se presentó durante el segundo período (1993-1997). El estudio de las diferentes circunstancias en los dos períodos permitió tener fundamentos para la toma de decisiones adecuadas respecto al diseño de los planes de estudio.

PROCEDIMIENTO

Se analizan los datos de:

- Inscripción
- Abandono (deserción)
- Egreso
- Graduación

DESTINO DE EGRESADOS

Se establece una comparación entre dos períodos: A) las generaciones de 1988 a 1992 y B) las de 1993 a 1997, mismas que representan dos etapas en la evolución del posgrado de Bioquímica Clínica (Tabla I). La primera etapa corresponde al origen de la especialización, se cuenta con las becas que proporciona en sector salud; la segunda etapa es la de consolidación, se carece de las becas de la SSA lo que lleva a iniciar una difusión más amplia del programa, además de la necesidad de buscar otras fuentes de financiamiento. Tradicionalmente, se había empleado el término deserción para los alumnos que dejan los estudios; este término se sustituye actualmente por el de abandono.

RESULTADOS

El número total de los alumnos inscritos en los períodos analizados fue de 119, sin embargo, en el momento de escribir el artículo ya se cuenta con 127. El número más alto de abandono se presentó en las dos primeras semanas después de la inscripción; que corresponde a las diferencias entre las barras de la figura 1, donde se representa el número de estudiantes inscritos y el número después del abandono por año. A pesar de que en ambos períodos la inscripción registrada fue similar, la deserción fue mayor en el primer período (1988-1992) con un 22 % de promedio (Tabla I). Un análisis a través de una Exacta de Fisher, al considerar a los años como de abandono o no en función de si sobrepasan el promedio de abandono de todos los años, entre los dos períodos considerados como factor período se indica una tendencia a una mayor frecuencia de casos en que no hay abandono en el segundo período ($p = 0.26$) (Fig. 1). Es decir, de estas primeras cifras se desprende que el abandono es mayor en el grupo de 1988-1992, que en el grupo de 1993-1997.

TABLA I

ALUMNOS INSCRITOS EN LOS PERIODOS 1988-1992 y 1993-1997

INSCRIPCIÓN	ABANDONO 1988-1992	ABANDONO 1993-1997	EGRESO 1988-1992	EGRESO 1993-1997	GRADUACIÓN HASTA 1994
No. Total inscritos	63	56			
(II) No. después de deserción	50	49	43	47	43
Porcentajes	Abandonan	Abandonan	(I) 68%	(I) 84%	48%
	22%	12.5%	(II) 86%	(II) 95%	

(I) = Antes y (II) = Después del abandono.

El número total de egresados en ambos períodos fue de 90 alumnos (Tabla II); esta cifra representa el 90% del total después de la deserción de las dos primeras semanas (Fig. 2). El segundo período presentó un mayor porcentaje promedio de egresos respecto al primer período. Un análisis del egreso al considerar a cada generación como 100% terminal contra cualquier fracción de no conclusión entre períodos como segundo factor, indica a su vez una clara tendencia a que el segundo período esté constituído por generaciones siempre terminales ($p = 0.083$) (Tablas I y II, Fig. 2).

La cifra de egresados hasta 1994 es de 52 estudiantes, de los cuales 43 se han titulado. Esto representa una eficiencia terminal en cuanto a egresados hasta esa fecha de 83%, lo que es un valor alto para la mayoría de los posgrados; la eficiencia de titulados en cuanto a inscripción es de 48% (Fig. 2 y Tabla III).

Un seguimiento de los egresados de la Especialización muestra que aproximadamente el 51% ocupa posiciones de dirección de laboratorios clínicos en diferentes instituciones nacionales de sa-

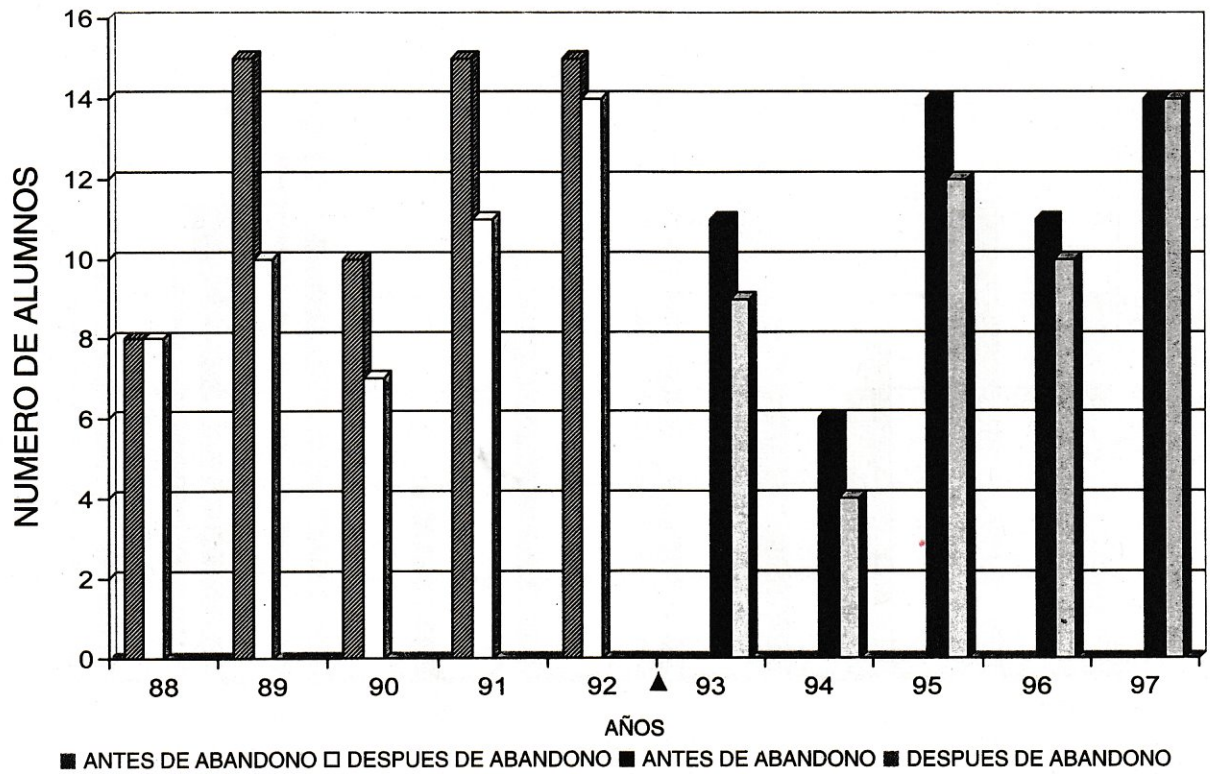


Figura 1. Cifras de inscripción y abandono de alumnos de la especialidad en Bioquímica Clínica desde 1988 a 1997.

TABLA II

CIFRAS DE EGRESADOS DE 1988 A 1997

TOTAL DE EGRESADOS 1988-1997	PORCENTAJES DE EGRESADOS 1988-1992	PORCENTAJES DE EGRESADOS 1993-1997
90	68	84

lud. Seis egresados están realizando estudios de doctorado (Tabla IV).

Un porcentaje importante de los egresados ocupa posiciones de dirección de laboratorios clínicos en las siguientes instituciones: Instituto Nacional de Pediatría, Instituto Nacional de Cancerología, Hospital de Petróleos Mexicanos, Comisión Nacional del Deporte, Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado.

Las cifras procedentes de un estudio longitudinal no exhaustivo, muestran datos de los egresados y titulados que obtuvieron puestos de trabajo en laboratorios especiales de los Institutos Nacionales de Salud (Tabla IV).

DISCUSIÓN

Los datos de inscripción muestran un incremento consistente a partir de 1993. Las eficiencias terminales de egreso y de graduación son de 47% y 52% respectivamente. El seguimiento de egresados muestra una tendencia a que ocupen puestos en el sector salud y jefaturas de laboratorios institucionales y privados; a diferencia de situaciones anteriores, en las que con contadas excepciones, el químico farmacobiólogo no podía aspirar a ocupar dichas posiciones. El ejemplo de este posgrado se ha extendido a nivel nacional, dando lugar a la formación de programas similares en provincia, con orientaciones parecidas y con formas de resolver las situaciones particulares de manera diversa e innovadora, como por ejemplo, ofrecer las clases

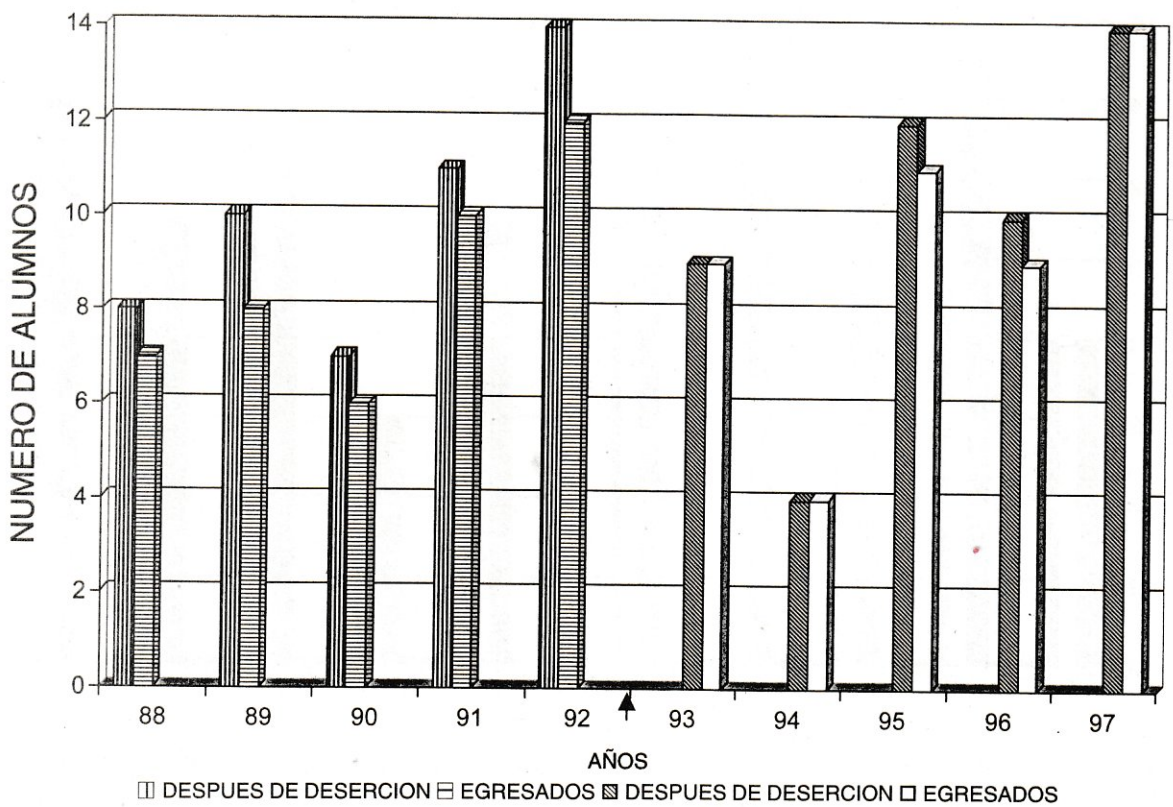


Figura 2. Cifras de egresados de la especialidad en Bioquímica Clínica desde 1988 a 1997.

TABLA III

EGRESADOS VS TITULADOS

No. DE EGRESADOS HASTA 1994	No. DE TITULADOS HASTA 1994	PORCENTAJE DE EFICIENCIA EN CUANTO A INGRESO	PORCENTAJE DE EFICIENCIA EN CUANTO A EGRESO
52	43	48	83

en forma intensiva durante los fines de semana y estancias hospitalarias parciales en algún instituto de salud en el Distrito Federal o en laboratorios reconocidos. Se han formado estos posgrados ya sea especialidades o maestrías, en universidades como las de Querétaro, Guerrero y Puebla, entre otras (13).

Uno de los resultados más interesantes es la reducción de la deserción en el segundo período analizado y el aumento de la eficiencia de egreso en este mismo período, lo que se puede atribuir a tres situaciones importantes:

1) A partir de 1992 se suspenden las becas de la Secretaría de Salud que traían consigo un tipo de estudiantes singulares; uno de cuyos intereses lo constituía el apoyo económico; al ser éste exiguo, abandonaban los estudios por no estar auténticamente motivados. Desde este momento, el grupo formado por el coordinador del posgrado, el Jefe del Departamento de Biología y la Coordinadora de la Especialización en Bioquímica Clínica de la Facultad de Química, UNAM, promueven las comisiones otorgadas al personal por los Institutos de Salud, en donde se invita a los Directores de los Institutos Nacionales de Salud a enviar a los químicos que trabajan en los laboratorios de los Institutos a realizar la Especialización durante tres semestres, conservando sus prerrogativas laborales y como becas, sólo permanecen aquellas de la

TABLA IV

SEGUIMIENTO DE EGRESADOS

NOMBRE DE LA INSTITUCIÓN A LA QUE PERTENECEN LOS LABORATORIOS ESPECIALES	***NUMERO DE EGRESADOS CON PUESTOS DE TRABAJO DE LABORATORIOS ESPECIALES***
INSTITUTO DE PEDIATRÍA	7
INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	2
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ	2
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS	2
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ	2
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL (IMSS)	6
INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO (ISSSTE)	7
OTRAS ACTIVIDADES DE LOS EGRESADOS	***NÚMERO DE EGRESADOS QUE SE DEDICAN A ESTA ACTIVIDAD***
SON LÍDERES DE OPINIÓN EN GRUPOS DE BIOQUÍMICA CLÍNICA EN UNIVERSIDADES DE PROVINCIA	4
DIRIGEN LABORATORIOS CLÍNICOS EN CIUDADES DE PROVINCIA	4
PROSIGUEN ESTUDIOS DE DOCTORADO	6
ESTABLECIERON LABORATORIOS CLÍNICOS PRIVADOS	2
SE DESEMPEÑAN EN LABORATORIOS TRANSNACIONALES DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS REACTIVOS CLÍNICOS Y LABORATORIOS FARMACÉUTICOS	3

Dirección General de Intercambio Académico de la UNAM; mismas que atraen a otro tipo de alumnos: más comprometidos con sus estudios y que ambicionan obtener mejor preparación en el área (5).

2) La comunicación entre egresados hace acudir a estudiantes interesados en áreas específicas del programa, dadas las cualidades del mismo, a realizar estos estudios. Indudablemente, estos alumnos tienen mayor decisión de permanecer en el programa.

3) Se empiezan a difundir los programas de certificación y acreditación, coincidentes con el advenimiento del Tratado de Libre Comercio, tanto de laboratorios como de profesionales con énfasis en la formación y en los grados obtenidos para lograr ascensos y posiciones de jefatura en laboratorios clínicos (12, 14, 15).

Por otra parte, con relación a las situaciones de reconocimiento de los especialistas egresados de este programa, se percibe en el medio que: La especialidad tiene un programa muy riguroso, inspirado en las especialidades médicas y con residencias muy similares a éstas mismas que comprometen completamente el tiempo del estudiante y no le permiten otro tipo de actividades a diferencia de algunos otros posgrados en los que la utilización del tiempo es mucho más flexible. El mismo hecho de que acudan a realizar la especialidad profesionales que están pendientes de la inminencia de los eventos de acreditación y certificación para personal con grado y para laboratorios, está haciendo que algunos de estos individuos se inscriban a posgrados relacionados con algun tema biológico más fáciles de cursar, con horarios y programas que permiten que el alumno trabaje simultáneamente en alguna actividad productiva y más aun, que se inscriban en aquellos que ofrecen programas más laxos (15).

A diferencia de lo que sucede en países desarrollados, la falta de reconocimiento adecuado de las especialidades de perfil médico por alguno de los sistemas de evaluación de la producción científica, ignorantes de las implicaciones académicas de estos programas, también hace que, equivocadamente, los profesionales que se van a dedicar al ejercicio de una especialidad se inscriban a un posgrado de "tipo científico", lo que es inadecuado para el ejercicio profesional de alto nivel (11).

CONCLUSIONES

- Los datos de deserción y de egreso del período 1993-1997 son más satisfactorios que los de 1988-1992. De esto se concluye que este programa ha adquirido en su desarrollo solidez y consistencia.
- Las modificaciones y adaptaciones que se han llevado a cabo dentro de las posibilidades del plan curricular han sido adecuadas para la evolución y actualización continuas de este posgrado.

Por estas razones es necesario adaptar este plan siguiendo los lineamientos del nuevo proyecto de modificación de programas de estudio de posgrado correspondiente a la Especialización.

- Es indispensable efectuar las gestiones necesarias, en los niveles superiores de la administración universitaria, que conduzcan a la obtención de apoyo económico para los alumnos de la especialidad.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos la participación del Dr. Leopoldo Valiente en el análisis estadístico de los datos.

REFERENCIAS

1. Castillo M L, Frei J, Wilde C (1988). El Proyecto Mexicano de Bioquímica Clínica. Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica, IFCC, Bioquimia VIII (42): 107-108.

2. Frei J, Wilde C, Worth H Browning D (1986) Mexico Clinical Chemistry Project.4th & 5th Report. Visita del equipo a México. Ed. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) *2*(3): 101-104.

3. Frei J, Wilde C, Worth H Browning D (1986) Mexico Clinical Chemistry Project.6th Report. Visita del equipo a México. Ed. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) *4*(2): 80-83.

4. Porter C J, Curnow D H (1983) International Federation of Clinical Chemistry & International Union of Pure and Applied Chemistry. A Scheme for a two year Post graduate Course in Clinical Chemistry. Recomendations Editor: J Clin Chem Biochem International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) *21*: 185-191.

5. Rugarcía A (1995) Calidad en el posgrado. Educación Química *6*(3): 152-156

6. Sánchez E, Valles V, Vázquez J, Lastra M D, Veláz-

quez O. Propuesta para la creación de la Especialización en Bioquímica Clínica (1989) Documento presentado ante el H. Consejo Universitario de la UNAM.

7. Worth H G J (1991) Clinical Chemistry-Down Mexico way. Journal of the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) *3*(1): 24-30.

8. Lastra M D, Sánchez E, Valles V, Vázquez J y Velázquez O (1988) Estudios de Especialización en Bioquímica Clínica en México, Bioquimia *13*: 4.

9. Catálogo de Estudios de Posgrado (1998) Programas Adecuados I y II. Editor: Dirección General de Estudios de Posgrado, UNAM, México, pp 479, 483-485.

10. Peña A (1994) "El papel de la enseñanza de la Bioquímica en la Universidad Mexicana", Bol Educ Bioq *13*(4): 133-136.

11. Reglamento General de Estudios de Posgrado. (1996) Secretaría General Académica, Coordinación General de Estudios de Posgrado. UNAM, México. Aprobado por el Congreso Universitario en su sesión del 4 de diciembre de1995 y publicado en la Gaceta UNAM del 11 de enero de 1996.

12. González M H (1994) Trascendencia del tratado de libre comercio sobre los programas académicos del químico farmacobiólogo, Educación Química *5*(3): 151-152.

13. ANUIES (1997) Anuario estadístico, Población Escolar de Licenciatura en Universidades e Institutos Tecnológicos y Población Escolar de Posgrado. México. pp 121-232, 375-481

14. Díaz G A (1995) El cambio en el marco legal del ejercicio profesional en México, Educación Química *6*(2): 90-94.

15. Lastra M D (1995) Acreditación en México, E.U.A. y Canadá, Bioquimia *33*: 22.

BEB *19*(4): 226-236

CADENAS RESPIRATORIAS EN PROTISTAS

Raúl Covián. Departamento de Bioquímica. Instituto Nacional de Cardiología. Juan Badiano 1, Col. Sección XVI, Tlalpan, México, D.F. 14080 México. Teléfono: 5573-2911 ext.1298, Fax: 5573-0926; correo electrónico: raulcov@hotmail.com

RESUMEN

Las mitocondrias de la mayoría de los protistas presentan cadenas respiratorias ramificadas en las que existe, además de la citocromo oxidasa; una quinol oxidasa terminal alterna, al parecer homóloga a la existente en plantas; pero con un mecanismo de activación mediado por nucleótidos monofosfatados. Varios géneros presentan NADH deshidrogenasas no translocadoras de protones con su sitio activo hacia el citosol o hacia la matriz mitocondrial. En los tripanosomátidos y euglénidos, representantes de los primeros protistas con mitocondrias, se han encontrado evidencias de una quinol:citocromo *c* oxidorreductasa distinta del complejo bc_1; así como de una fumarato reductasa, ambas posiblemente específicas para rodoquinona. Estas complejas redes de transporte de electrones, que en el caso de protistas parásitos han sido objeto de estudios con enfoque clínico, contrastan con las cadenas respiratorias lineares de los vertebrados superiores por tener varias enzimas que no participan en la generación de un gradiente electroquímico de protones. Su función parece ser el evitar la acumulación de equivalentes reductores bajo condiciones en las que la concentración de oxígeno y de sustratos oxidables es muy variable.

PALABRAS CLAVE: Cadena respiratoria, protistas, respiración resistente al cianuro, mitocondria.

ABSTRACT

Most protist mitochondria exhibit branched respiratory chains containing, besides cytochrome oxidase, an alternative terminal quinol oxidase; apparently homologous to that of plants, but possessing an unique activation mechanism by nucleotide monophosphates. Several genera have non-electrogenic NADH dehydrogenases with their active site facing either the cytosol or the mitochondrial matrix. In trypanosomatides and euglenids, representatives of the first mitochondriate eukaryotes, evidence has been found for a quinol:cytochrome *c* oxidoreductase different from the bc_1 complex and for a fumarate reductase, both possibly specific for rhodoquinone. These complex electron transfer networks, which have been studied for medical reasons in the case of parasite protists, differ sharply from the linear respiratory chains of superior vertebrates; having several enzymes not involved in generating an electrochemical proton gradient. Their function is probably to avoid the accumulation of reducing equivalents in conditions where oxygen and oxidizable substrate concentrations are highly variable.

KEY WORDS: Respiratory chain, protists, cyanide-resistant respiration, mitochondria.

INTRODUCCIÓN

Las cadenas respiratorias mejor estudiadas desde el punto de vista funcional y estructural son las de mitocondrias de vertebrados superiores. Estas poseen cuatro complejos enzimáticos: la NADH deshidrogenasa (NADH:ubiquinona oxidorreductasa), la succinato deshidrogenasa (succinato:ubiquinona oxidorreductasa), el citocromo bc_1 (ubiquinol:ferricitocromo *c* oxidorreductasa) y la citocromo oxidasa (ferrocitocromo *c*:oxígeno oxidorreductasa); de los cuales sólo la succinato deshidrogenasa no acopla su reacción redox al bombeo de protones. La primera transferencia de electrones se realiza desde el NADH intramitocondrial, el succinato, el glicerol-3-fosfato o el acil-coenzima A, hacia la ubiquinona por la correspondiente deshidrogenasa. Desde el ubiquinol formado hasta el oxígeno, los electrones son transferidos por una sola ruta a través del complejo bc_1, el citocromo *c* y la citocromo oxidasa. En las mitocondrias de algunos tejidos, en particular de hígado, el NADH citosólico puede donar sus electrones a la cadena respiratoria por medio de la NADH:citocromo b_5 oxidorreductasa de la membrana externa mitocondrial y del citocromo b_5 encontrado en el espa-

cio intermembranal, el cual reduce al citocromo *c* (1). Hay dos características notables de las cadenas respiratorias en vertebrados: 1) Existen varias entradas posibles de electrones pero sólo una salida y 2) Todos los electrones pasan por al menos un complejo que acopla la oxidorreducción al bombeo de protones, por lo que la respiración está siempre acoplada a la generación de un gradiente electroquímico sin importar cuál sea el sustrato oxidable (Fig. 1).

Las cadenas respiratorias de otros eucariontes, como las plantas y algunos hongos, no poseen las dos características antes mencionadas. Las mitocondrias de los protistas presentan las cadenas respiratorias más complejas de todos los eucariontes por sus múltiples ramificaciones. El estudio de estas cadenas se basa principalmente en el uso de compuestos que inhiben específicamente a los distintos complejos respiratorios. Mientras que la respiración en las mitocondrias de vertebrados es totalmente abatida por compuestos como la rotenona, la antimicina o el cianuro (inhibidores de la NADH deshidrogenasa, del complejo bc_1 y de la citocromo oxidasa, respectivamente), en las mitocondrias de muchos protistas el consumo de oxígeno se inhibe sólo de manera parcial en presencia de cualquiera de estos compuestos. Esto se debe a la presencia de otras enzimas que permiten a los electrones seguir vías alternas hasta el oxígeno o algún otro aceptor terminal. En particular las oxidasas terminales distintas de la citocromo oxidasa, resistentes al cianuro en protistas, se denominan oxidasas alternas. Además, al encontrar una resistencia a la antimicina en segmentos de la cadena respiratoria de algunos protistas, como el que va desde las deshidrogenasas hasta el citocromo *c*, se ha obtenido evidencia de que existen enzimas alternas al complejo bc_1. Puesto que las enzimas de estas diferentes vías alternas no están presentes en mamíferos, se ha intentado diseñar y utilizar inhibidores específicos con la intención de combatir enfermedades causadas por protistas parásitos que tienen cadena alterna. Por otra parte, dentro de los protistas se encuentran representantes de los eucariontes más primitivos, por lo que es interesante el estudio de las cadenas respiratorias en estos organismos desde el punto de vista evolutivo.

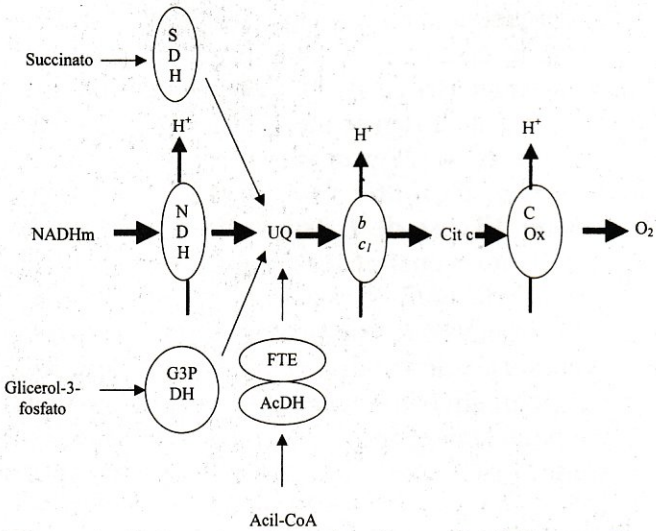


Figura 1. Cadena respiratoria mitocondrial de mamíferos. Se muestran formando parte de la cadena a la glicerol-3- fosfato deshidrogenasa (G3PDH) y a la acil-coenzima A deshidrogenasa (AcDH) junto con la flavoproteína transferidora de electrones (FTE), aunque estas enzimas se consideran tradicionalmente como parte de otras vías metabólicas (glucólisis y b-oxidación). Se omite la vía de oxidación de NADH citosólico para reducir al citocromo *c* por vía del citocromo b_5 por ser una particularidad de los hepatocitos. Las demás enzimas e intermediarios del transporte electrónico mostrados son: NADH de la matriz mitocondrial (NADHm), NADH deshidrogenasa sensible a rotenona (NDH), succinato deshidrogenasa (SDH), ubiquinona (UQ), complejo bc_1 (bc_1), citocromo *c* (cit *c*), y citocromo *c* oxidasa (COx). Con trazos gruesos se indica la vía preferentemente usada. La translocación de protones se señala con flechas verticales gruesas.

El objetivo de esta revisión es discutir los modelos propuestos para las cadenas respiratorias en los diferentes grupos de protistas estudiados, así como su posible función, relevancia clínica e implicaciones evolutivas, con especial énfasis en las diferencias que presentan con respecto a la cadena respiratoria de los vertebrados.

CADENAS RESPIRATORIAS DE PROTISTAS PARÁSITOS

1. APICOMPLEXA

La mayoría de los estudios sobre cadenas respiratorias en protistas se centra en aquellos que tienen importancia médica, ya que ciertos fármacos parecen tener como uno de sus blancos a ciertas enzimas mitocondriales. En el caso de *Plasmodium falciparum*, agente causante de la malaria, los estudios sobre su cadena respiratoria (2) se han efectuado solamente en la etapa asexual del parásito en la que infecta los eritrocitos del hospedero. Se

ignora si se expresan otras enzimas respiratorias en las demás etapas del ciclo de vida. La respiración de las células intactas de *P. falciparum* sin sustrato añadido es baja, siendo sólo del 10% con respecto a la de los glóbulos blancos, células que sirven de punto de comparación por estar bajo la misma concentración de oxígeno y de sustratos oxidables que el parásito en la sangre. Sin embargo, se ha comprobado la presencia de la succinato deshidrogenasa, del complejo bc_1 y de la citocromo oxidasa, así como la formación de un gradiente transmembranal de protones. Aparentemente no existe una NADH deshidrogenasa que participe en el bombeo de protones, debido a la insensibilidad de la respiración a rotenona.

Una característica notable es que un 25% de la respiración es resistente al cianuro, pero sensible a salicilhidroxamato (SHAM) y n-propilgalato (nPG). Estos dos compuestos son inhibidores específicos de la ubiquinol oxidasa terminal de plantas, enzima que no participa en la generación del potencial transmembranal por ser incapaz de bombear protones. Es de interés que esta respiración resistente a cianuro, no acoplada a la fosforilación, parece ser indispensable para *P. falciparum*, ya que concentraciones inferiores a 10 μM de algunos derivados sustituidos de SHAM y nPG en el medio de cultivo inhiben el crecimiento del parásito a menos de la mitad. Se ha propuesto que, debido a su baja actividad, la función principal de la cadena respiratoria en *P. falciparum* no es la producción de energía, sino el proveer una vía de salida para los electrones provenientes de reacciones de deshidrogenación que forman parte de vías como la síntesis de pirimidinas. Sin embargo, no está clara la razón por la cual los inhibidores de la respiración resistente al cianuro son capaces por sí solos de detener el crecimiento del parásito en ausencia de algún otro inhibidor de la porción generadora de gradiente; al inhibir únicamente a la ubiquinol oxidasa alterna, los electrones deberían seguir libremente hasta el oxígeno por la citocromo oxidasa. Es posible que los derivados de SHAM y nPG inhiban otros procesos celulares extramitocondriales. La fuerte inhibición del crecimiento de *P. falciparum* a bajas concentraciones de nPG y sus derivados es de importancia clínica, ya que este compuesto es poco tóxico para el ser humano, al grado que se utiliza como aditivo para alimentos. Existe la posibilidad de tratar la malaria utilizando inhibidores de la oxidasa alterna en combinación con la atovacuona, un análogo de la ubiquinona que actúa específicamente sobre el complejo bc_1 del parásito sin afectar el de los mamíferos (2).

En cuanto a otros organismos del orden Apicomplexa, también se ha encontrado respiración resistente al cianuro en *Babesia bovis*, aunque no así en *Toxoplasma gondii,* cuya velocidad de respiración es además más elevada (2). Probablemente *T. gondii* tiene mayores requerimientos de energía, por lo que su cadena respiratoria funciona, no solamente como una salida de electrones, sino principalmente para sostener la síntesis de ATP, a diferencia de lo que ocurre en *P. falciparum* y *B. bovis*.

2. CINETOPLASTIDA

Este orden abarca a los organismos que poseen cinetoplastos, los cuales son mitocondrias con su DNA organizado en cadenas circulares entrelazadas que le confieren a estos organelos una apariencia característica al observarse al microscopio. Dentro de este orden se han estudiado las cadenas respiratorias de *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi*, *Crithidia fasciculata* y *Leishmania donovani.* El caso de *T. brucei* es especial por expresar distintas enzimas respiratorias dependiendo de la parte del ciclo de vida en el que se encuentre (3). En la etapa de tripomastigote en el torrente sanguíneo, la mitocondria no presenta ningún complejo enzimático que contenga citocromos, sino únicamente una glicerol-3-fosfato:ubiquinona oxidorreductasa y una ubiquinol oxidasa sensible a SHAM (Fig. 2A). No existe bombeo de protones, por lo que todo el ATP sintetizado proviene de la glucólisis, siendo necesaria la regeneración continua del NAD^+ a través de la lanzadera de glicerol-3-fosfato. Por lo tanto, al inhibir a la ubiquinol oxidasa, la glucólisis se detiene por acumulación de NADH, lo que sugiere que compuestos como el nPG podrían utilizarse de manera terapéutica contra *T. brucei*, así como se ha propuesto para combatir a *P. falciparum*. La ubiquinol oxidasa de *T. brucei* es más parecida a la encontrada en hongos como *Neurospora crassa* y *Hansenula anomala* que a las existentes en plantas, tanto en la secuencia de aminoácidos como en su punto isoeléctrico (3). Por otra parte, en la etapa procíclica

se expresan la succinato deshidrogenasa, el complejo bc_1 y la citocromo oxidasa, aunque la oxidasa sensible a SHAM sigue presente, ya que la respiración sigue siendo resistente entre un 5 y 10% al cianuro (4).

Los demás cinetoplástidos estudiados presentan una cadena que contiene citocromos junto con la oxidasa resistente al cianuro durante todo su ciclo de vida (Fig. 2B), incluso en la etapa en la que viven en la sangre del hospedero mamífero, por lo que no dependen únicamente de la glucólisis para sintetizar ATP en esta etapa (5). Esto podría dificultar el uso de inhibidores de la oxidasa resistente al cianuro de manera terapéutica, pues la cadena respiratoria seguiría funcionando a través de la citocromo oxidasa.

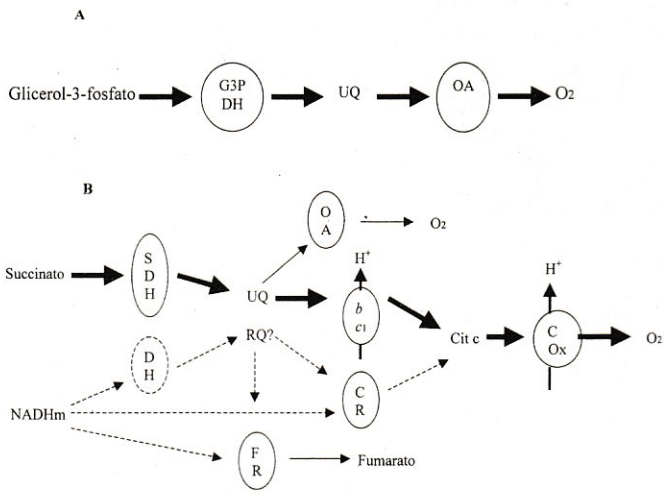


Figura 2. Cadena respiratoria de cinetoplástidos. (A) *Trypanosoma brucei* presenta en la etapa de tripomastigote una cadena con sólo dos enzimas: la glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (G3PDH), y una oxidasa alterna (OA). **(B)** *T. brucei* presenta en la etapa procíclica, así como los demás cinetoplástidos durante todo su ciclo de vida, una cadena con múltiples ramificaciones. En esta cadena no existe NADH deshidrogenasa translocadora de protones; el NADH es oxidado por una deshidrogenasa insensible a rotenona (DH). Se ha propuesto que esta enzima reduce directamente al citocromo *c*, pero es más probable que esta reacción esté mediada por la rodoquinona (RQ) y por una citocromo *c* reductasa insensible a antimicina (CR). El fumarato puede ser como aceptor terminal de electrones en lugar del oxígeno a través de la actividad de una fumarato reductasa (FR) para formar succinato. El succinato es el sustrato principalmente oxidado en estas cadenas respiratorias, como se indica con flechas gruesas. Las demás abreviaturas se explican en la figura 1. Las vías o componentes hipotéticos se indican con flechas o líneas punteadas, o con signo de interrogación. Para simplificar, se ha omitido la conexión entre la b-oxidación y la cadena respiratoria.

La oxidasa alterna en *Leishmania* parece no ser del tipo presente en las plantas, como la de *Trypanosoma*, ya que es insensible a SHAM, aunque se inhibe por concentraciones micromolares de ortohidroxidifenilo (6). Este compuesto inhibe las oxidasas resistentes al cianuro de parásitos pluricelulares como *Ascaris*, aunque por sí solo es capaz de bloquear también la respiración sensible al cianuro, quedando claro que no es un inhibidor específico. Adicionalmente, el gen para la oxidasa del tipo de las plantas parece estar ausente en el genoma de *L. donovani* y *L. mexicana*, por lo que permanece la interrogante sobre la identidad de la oxidasa alterna en este género (6). El ortohidroxidifenilo pudiera ser potencialmente un agente terapéutico contra la leishmaniasis, aunque por su poca especificidad podría resultar tóxico para el hospedero.

El sustrato preferencialmente oxidado por las mitocondrias de los cinetoplástidos es el succinato, el cual se forma a partir de la degradación de la prolina (muy activa en estos organismos) y de la glucólisis; que se encuentra modificada de tal modo que el fosfoenolpiruvato se transforma a malato, el cual entra a la mitocondria para ser hidratado a fumarato; este a su vez se reduce a succinato (4). El complejo translocador de protones de la NADH deshidrogenasa está ausente ya que en todos los cinetoplástidos estudiados la respiración con este sustrato es insensible a la rotenona, mientras que en *Crithidia fasciculata* y *Leishmania tarentolae* no es posible detectar ningún ARN mensajero que corresponda a alguna de las subunidades de este complejo (7). Los electrones que provienen del NADH pueden reducir el fumarato a succinato. El succinato puede ser reoxidado por la succinato deshidrogenasa o puede ser excretado al exterior de la célula en condiciones de baja concentración de oxígeno. De esta manera el fumarato es utilizado como aceptor final de electrones en lugar del oxígeno, permitiendo que las vías metabólicas formadoras de NADH no se detengan por la acumulación de su producto en condiciones anaerobias (4).

Se desconocen las enzimas que intervienen en la transferencia de electrones entre el NADH y el fumarato en cinetoplástidos. Se ha propuesto la existencia de una NADH:fumarato oxidorreductasa independiente de quinonas (6). Sin embargo,

recientemente se ha caracterizado en eucariontes que resisten a la anaerobiosis, como helmintos parásitos y moluscos, una rodoquinol:fumarato oxidorreductasa llamada comúnmente fumarato reductasa la cual es una isoenzima de la succinato deshidrogenasa. La fumarato reductasa utiliza como sustrato una quinona con un grupo amino en lugar del metóxido en la posición 3 de la ubiquinona que le confiere un potencial redox de -63 mV (la ubiquinona tiene un valor de +100mV) haciendo termodinámicamente posible la reducción del fumarato (8). Se ha encontrado además una correlación estrecha entre la existencia de fumarato reductasa y la presencia de rodoquinona en los organismos pluricelulares mencionados. Sin embargo, en *Trypanosoma rhodesiense*, *Crithidia fasciculata* y *Crithidia oncopelti* se ha reportado únicamente la presencia de ubiquinona (9), por lo que no es posible afirmar que la fumarato reductasa exista en cinetoplástidos. No se ha podido determinar tampoco la identidad de la NADH deshidrogenasa que reduce a la poza de quinonas ni su especificidad hacia la ubiquinona o la supuesta rodoquinona (Fig. 2B).

En cinetoplástidos, el NADH es oxidado por fracciones enriquecidas de membranas totales, pero no por células parcialmente permeabilizadas donde las mitocondrias permanecen intactas (el aislamiento de mitocondrias en estos organismos es técnicamente muy difícil), lo que indica que no existe una NADH deshidrogenasa externa como la que presentan las mitocondrias de plantas (6). En fracciones membranales se ha determinado que no todos los electrones del NADH se utilizan para la formación de succinato; ya que existe reducción de citocromo *c* al añadir este sustrato, incluso mayor a la que se encuentra con succinato en el caso de *Leishmania*. Esta actividad disminuye un 50% en *T. brucei* al añadir superóxido dismutasa o catalasa (4), por lo que se ha propuesto que hay formación de H_2O_2 en el sitio activo de la fumarato reductasa en ausencia de su sustrato. Sin embargo, la reducción de citocromo *c* dependiente de NADH existe aun en presencia de altas concentraciones de fumarato, por lo que parece ser una actividad genuinamente enzimática. Además, la insensibilidad total de esta actividad a la antimicina, compuesto que bloquea casi por completo la actividad de succinato:citocromo *c* oxidorreductasa, indica la existencia de una enzima que cataliza la transferencia de electrones al citocromo *c*, distinta del complejo bc_1.

CADENAS RESPIRATORIAS EN PROTISTAS DE VIDA LIBRE

1. EUGLENIDA

En *Euglena gracilis* existen los cuatro complejos clásicos, junto con una NADH deshidrogenasa no sensible a rotenona que no transloca protones y cuyo sitio activo parece estar orientado hacia el citosol, como en las mitocondrias de plantas (10). Las mitocondrias de *Euglena* también son capaces de oxidar D- y L-lactato por medio de una enzima que no depende de NAD, y que por lo tanto no genera NADH (11). Con L-lactato, existe un 40% de respiración resistente a antimicina que sostiene el 25% de la velocidad de síntesis de ATP presente en ausencia de inhibidor (12). La actividad de reducción de citocromo sostenida por L-lactato es resistente en un 45% a la antimicina, lo cual indica que una fracción de los electrones llega a la citocromo oxidasa por una vía distinta a la del complejo bc_1 (Fig. 3). Puesto que tanto la respiración

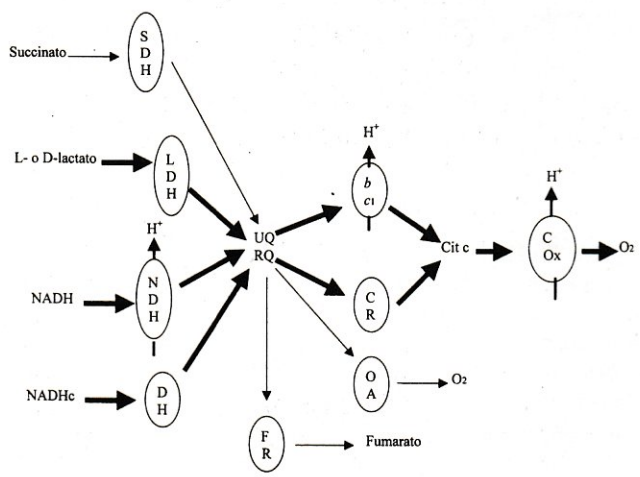


Figura 3. Cadena respiratoria de *Euglena gracilis*. Esta cadena oxida L- y D- lactato a través de una o dos lactato deshidrogenasas membranales independientes de NAD (LDH). La rodoquinona (RQ) posiblemente acepta parte de los electrones de estas enzimas y de las NADH deshidrogenasas, en particular de la insensible a rotenona (DH), que oxida NADH citosólico (NADHc). La succinato deshidrogenasa (SDH) reduce exclusivamente a la ubiquinona (UQ). La fumarato reductasa (FR), la citocromo *c* reductasa insensible a antimicina (CR) y probablemente la oxidasa alterna (OA) reciben electrones preferentemente del rodoquinol; mientras que el complejo bc_1 oxida sólo al ubiquinol. Los demás símbolos se explican en las figuras previas.

como la reducción de citocromo *c* se inhiben alrededor del 85% por antimicina cuando el sustrato es succinato, parece ser que en *E. gracilis* existe, lo mismo que en cinetoplástidos, una quinol:citocromo *c* oxidorreductasa distinta del complejo bc_1 posiblemente con mayor especificidad para rodoquinol que para ubiquinol (Tabla I). En las mitocondrias de *E. gracilis* la rodoquinona se encuentra en concentraciones equimolares con respecto a la ubiquinona (9). La participación de alguna de estas quinonas en la oxidación de lactato está apoyada por los siguientes datos: 1) la reducción de citocromo *c* resistente a antimicina con L-lactato se inhibe por completo con mixotiazol o estigmatelina (compuestos que inhiben a enzimas que utilizan quinonas como sustrato) a concentraciones inferiores a 1 µM; 2) la localización de la L-lactato deshidrogenasa independiente de NAD parece ser membranal, como las de bacterias que reducen quinonas, ya que las partículas submitocondriales de *E. gracilis* también oxidan lactato y 3) la extracción o destrucción parcial de las quinonas mitocondriales con solventes orgánicos o luz ultravioleta inhibe la respiración y la reducción de citocromo *c* con L-lactato y succinato de modo semejante, siendo reactivadas al añadir quinonas sintéticas (12). La presencia de rodoquinona en este organismo, por otra parte, armoniza con el hallazgo de una actividad de fumarato reductasa como ocurre en los tripanosomátidos (8).

Las mitocondrias de *Euglena* también poseen un 90% de respiración resistente al cianuro con D-lactato, la cual disminuye a 40% con NADH y a menos del 10% con succinato (10, 11). Como ocurre en *Leishmania* (6), los inhibidores de la quinol oxidasa semejante a la de plantas como SHAM, nPG y disulfiram, sólo ejercen una inhibición parcial sobre este componente respiratorio resistente al cianuro (13). No está claro si el sustrato de esta oxidasa es el ubiquinol o el rodoquinol, aunque la baja actividad de quinol oxidasa cuando se utilizan como sustratos análogos sintéticos del ubiquinol favorece la segunda opción. Aunque la síntesis de ATP se abate por completo con cianuro; la cadena resistente al cianuro genera suficiente potencial transmembranal, sensible a desacoplante, como para sostener la entrada de calcio a la mitocondria (11). Esto deja abierta la posibilidad de que esta oxidasa alterna también sea capaz de bombear protones, aunque a una velocidad baja que no permite la generación de un gradiente suficiente para sintetizar ATP. En las mitocondrias aisladas de células de *E. gracilis* cultivadas en presencia de succinato y antimicina o de etanol, esta actividad respiratoria resistente al cianuro es estimulada siete veces por AMP con succinato como sustrato, mas no así cuando las células son cultivadas en succinato (sin antimicina) o glutamato y malato (14). La estimulación del componente resistente al cianuro por AMP depende tanto de las condiciones de cultivo como del sustrato oxidable añadido a las mitocondrias aisladas, por lo que se ha sugerido incluso que existen dos oxidasas alternas. Este efecto es atribuible en parte al ADP formado por la actividad de la adenilato cinasa al añadir AMP,

TABLA I

REDUCCIÓN DE CITOCROMO *c* Y RESPIRACIÓN RESISTENTE A ANTIMICINA

ORGANISMO	SUSTRATO	REDUCCIÓN DE CITOCROMO C RESISTENTE A ANTIMICINA (%)	RESPIRACIÓN RESISTENTE A ANTIMICINA (%)
Trypanosoma brucei	NADH	24-95[a]	100
Trypanosoma cruzi	NADH	50-100[a]	100
Leishmania donovani	NADH	87.5	80
Euglena gracilis	NADH	49	30
Euglena gracilis	D-lactato	55	90
Euglena gracilis	L-lactato	45	45

a: el valor inferior es en presencia de fumarato

lo que se confirma por la sensibilidad parcial de esta activación hacia la oligomicina, compuesto que al inhibir a la ATP sintetasa impide que la adenilato cinasa tenga ATP para transformar el AMP a ADP (11). De hecho, el ADP por sí solo estimula en igual grado que el AMP, aunque con menor afinidad. Sin embargo, el IMP es incluso ligeramente mejor activador, por lo que parece ser que la oxidasa alterna tiene una especificidad amplia por varios nucleótidos.

La identidad de esta oxidasa alterna se desconoce, aunque se ha propuesto que pudiera ser un citocromo *b* cuya cantidad aumenta a la par que la resistencia al cianuro cuando se cultiva a las células en presencia de este inhibidor (15). Existe la posibilidad de que esta oxidasa sea del tipo planta, a pesar de la falta de inhibición por SHAM, ya que se han aislado mutantes funcionales de esta enzima en *Arabidopsis thalliana* que son resistentes a este compuesto (13). La capacidad de formar al menos cierto potencial transmembranal no es congruente con la presencia de una oxidasa alterna no electrogénica, aunque la estimulación por nucleótidos monofosfatados es característica de las oxidasas sensibles a SHAM en ciliados y amibas, que claramente son del tipo presente en las plantas, como se mostrará más adelante.

La presencia de una fumarato reductasa, una quinol:citocromo c oxidorreductasa distinta del complejo bc_1, y de una quinol oxidasa resistente al cianuro tanto en cinetoplástidos como en euglénidos es relevante desde el punto de vista evolutivo, ya que estos dos órdenes constituyen uno de los linajes eucariontes más primitivos (16). Es razonable suponer que estas dos enzimas de la cadena alterna aparecieron junto con los primeros eucariontes con mitocondrias.

2. CILIADOS

Los estudios sobre las cadenas respiratorias en este grupo de protistas se refieren principalmente a *Paramecium tetraurelia*. En este organismo se ha identificado la presencia de la NADH deshidrogenasa generadora de gradiente de protones, así como de la succinato deshidrogenasa, el complejo bc_1 y la citocromo oxidasa (17). Adicionalmente, se ha encontrado una respiración resistente al cianuro y sensible a SHAM, lo que indica la presencia de una quinol oxidasa del tipo de las plantas (17; Fig. 4). Esta vía alterna corresponde al 40-50% del consumo de oxígeno total en ausencia de ADP (estado 4) con piruvato y malato como sustrato, y del 15 al 20% en estado 3, incrementándose cinco veces al añadir AMP. Aunque esta estimulación podría deberse a la formación de ADP por la actividad de la adenilato cinasa, como ocurre en *E. gracilis*, se ha encontrado que en presencia de carboxiatractilósido (inhibidor del transporte de ADP a la matriz mitocondrial) o de EDTA como quelante del magnesio necesario para la actividad de la cinasa, sigue existiendo una estimulación de 2.5 veces de la respiración resistente al cianuro con AMP. El GMP y el IMP también estimulan, aunque solo un 65% con respecto al AMP. Estos resultados sugieren un efecto directo de estos nucleótidos sobre la oxidasa alterna de *Paramecium*. Un análogo fotoactivable del AMP, el NAP_4-AMP (3´-{4-[N-(4-azido-2-nitrofenil)amino]butiril}-AMP), se comporta como un inhibidor competitivo de la estimulación de la respiración resistente al

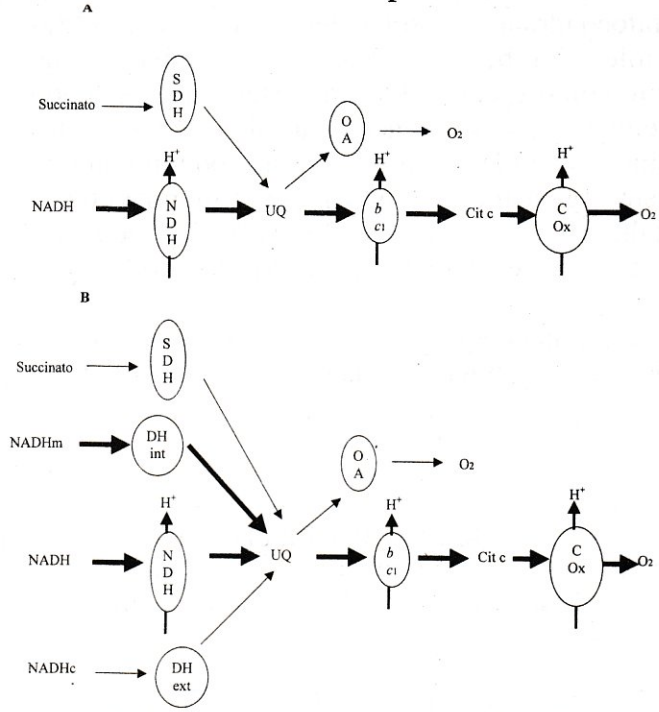


Figura 4. Cadena respiratoria de ciliados (A) y de protistas cercanos filogenéticamente a plantas como *Acanthamoeba castellanii* y *Chlamydomonas* (B). En estos últimos, las vías de entrada de los electrones provenientes del NADH son múltiples, existiendo dos NADH deshidrogenasas insensibles a rotenona: una externa (DH ext) que oxida el NADH citosólico (NADHc) y otra interna (DH int) que utiliza el NADH de la matriz. El resto de los símbolos se explican en las figuras anteriores.

cianuro. Al incubar a las mitocondrias con este análogo marcado radiactivamente e irradiar con pulsos de luz, se marcan tres proteínas de masa molecular de 50, 35 y 30 kDa. Las dos últimas pierden la marca radiactiva al preincubar a las mitocondrias con AMP, por lo que alguna de ellas probablemente corresponde a la oxidasa alterna (18).

Debido al hallazgo de dos constantes de inhibición para el cianuro y para SHAM, se ha propuesto la existencia de una tercera oxidasa terminal que se inhibe por ambos compuestos, relacionada con una disminución en la reducción de un citocromo *b* (18). Sin embargo, las dos constantes encontradas para el cianuro son muy cercanas entre sí (10 y 50 μM), por lo que pudiera corresponder en ambos casos a la citocromo *c* oxidasa. La segunda constante para SHAM es tan alta (0.7 mM) que podría explicarse como un efecto inhibitorio inespecífico sobre cualquier enzima de la cadena respiratoria; no necesariamente sobre una oxidasa terminal alterna.

Otro ciliado estudiado es *Tetrahymena pyriformis*, en cuya cadena respiratoria se encuentran los tres complejos generadores de gradiente además de la succinato deshidrogenasa. La citocromo *c* oxidasa tiene la particularidad de carecer de hemo A, ya que el máximo de absorción alrededor de los 605 nm está ausente, presentando en su lugar un grupo hemo no identificado hasta el momento que tiene su máximo de absorción en 620 nm (19). Las mitocondrias aisladas de este organismo son incapaces de oxidar NADH citosólico y toda la actividad de reducción de citocromo *c* con sustratos generadores de NADH en la matriz, como el α-cetoglutarato, es totalmente sensible a rotenona. Esto indica que no existen otras NADH deshidrogenasas aparte de la clásica. Por otra parte, se ha reportado una considerable variación en la sensibilidad al cianuro entre distintas cepas de *Tetrahymena*, desconociéndose la naturaleza de la oxidasa terminal alterna.

3. AMIBAS DE VIDA LIBRE Y CLOROFITAS

Se ha caracterizado con detalle la cadena respiratoria mitocondrial de la ameba *Acanthamoeba castellanii*. Sobresalen sus semejanzas con la cadena mitocondrial de plantas al presentar, además de los tres complejos enzimáticos electrogénicos y de la succinato deshidrogenasa, una NADH deshidrogenasa externa; otra interna insensible a rotenona (ambas sin actividad de bombeo de protones) y la quinol oxidasa alterna sensible a SHAM (Fig. 4) la cual reacciona de manera cruzada con anticuerpos contra la oxidasa de plantas (20). Sin embargo, la respiración resistente al cianuro en *A. castellanii* es activada por AMP, GMP e IMP, como ocurre en *E. gracilis* y en *P. tetraurelia* pero no en plantas, donde la oxidasa alterna es activada por oxoácidos como el piruvato. Esto sugiere que una gran variedad de protistas poseen una quinol oxidasa del tipo de las plantas con modificaciones que le confieren un mecanismo diferente de activación. Por ejemplo, la respiración resistente al cianuro representa sólo un 10% del control en estado 3 en ausencia de nucleótidos monofosfatados, pero la adición de GMP la estimula ocho veces. Otra diferencia importante entre esta oxidasa alterna y la de plantas radica en el estado de agregación: experimentos de entrecruzamiento e identificación con anticuerpos revelan que esta enzima es dimérica en plantas, pero monomérica en *A. castellanii*. Los mismos estudios sugieren que la oxidasa alterna en este protista es una proteína de 35 kDa. Aunque hay otros dos péptidos de 38 y 32 kDa que también reaccionan con el anticuerpo contra la oxidasa de planta, sólo la de 35 kDa disminuye en su concentración junto con el porcentaje de respiración insensible al cianuro a medida que el cultivo aumenta de edad (20).

Dentro de los protistas fotosintéticos, únicamente algunas clorofitas se han estudiado con el fin de caracterizar sus cadenas respiratorias. El género mas estudiado es *Chlamydomonas*, en donde, además de los cuatro complejos respiratorios clásicos, se ha identificado una quinol oxidasa resistente al cianuro que reacciona con anticuerpos contra la oxidasa alterna de plantas (21). En condiciones normales de cultivo, el cianuro no tiene efecto inhibitorio sobre la velocidad de respiración sensible a SHAM medida en células intactas, incluso la estimula en un 40%; mientras que en ausencia de cianuro, el SHAM tiene un efecto estimulatorio de casi 30% (22). Esto significa que la capacidad de consumo de oxígeno de ambas vías, clásica y alterna, es muy semejante, por lo que al bloquear una de ellas la otra puede alcanzar una

velocidad mayor que cuando ambas están funcionando y compitiendo por la poza de quinol. Resultados semejantes se han reportado para el género *Chlorella*. En este aspecto, las clorofitas parecen ser diferentes a los demás protistas, en donde la vía sensible al cianuro tiene una capacidad de cuatro a diez veces superior a la de la vía alterna (Tabla II). Cuando *Chlamydomonas* se cultiva en presencia de 2 a 5% de CO_2, la actividad de la oxidasa alterna disminuye, pues la respiración resistente al cianuro es de solo el 10% del control. Por otra parte, aunque la resistencia al cianuro se ha encontrado en otras clorofitas como *Nitella* y *Dunaliella*, no puede decirse que sea común para todas las algas verdes, ya que la respiración de *Selenastrum minutum* es totalmente sensible al cianuro. Por otra parte, se ha encontrado una actividad de NADH deshidrogenasa interna insensible a rotenona (no electrogénica) en mutantes que carecen de las subunidades codificadas en la mitocondria de la deshidrogenasa translocadora de protones (23). Estas mutantes no son viables en ausencia de luz, lo que indica la incapacidad de esta vía alterna para sostener la síntesis de ATP. No es sorprendente la semejanza de los componentes respiratorios de *A. castellanii* y *Chlamydomonas* con aquellos de los organismos fotosintéticos multicelulares en vista de los estudios filogenéticos que sitúan a estos protistas cerca de la rama que conduce al reino de las plantas (16). Sin embargo, como se mencionó antes, la presencia de una oxidasa terminal resistente al cianuro está extendida aún en protistas alejados filogenéticamente de las plantas, como los cinetoplástidos.

CONCLUSIONES

A diferencia de la llamada cadena respiratoria clásica de vertebrados, con su única oxidasa terminal, la gran mayoría de los protistas estudiados poseen cadenas respiratorias ramificadas en las que hay al menos dos vías para llegar al oxígeno. La vía alterna a la que pasa por la citocromo oxidasa se manifiesta por la respiración resistente al cianuro que existe aún en protistas parásitos como *Plasmodium falciparum*, en donde las funciones mitocondriales están muy reducidas y la respiración es muy baja. Existe evidencia de que es posible inhibir el crecimiento de este parásito utilizando compuestos que actúan específicamente sobre la oxidasa resistente al cianuro. La misma estrategia podría utilizarse contra *Trypanosoma brucei*, organismo que en la etapa infectiva en el humano depende por completo de esta oxidasa alterna. En la mayoría de los protistas, las oxidasas terminales

TABLA II

RESPIRACIÓN RESISTENTE AL CIANURO EN PROTISTAS

ORGANISMO	RESISTENCIA AL CIANURO (%)	INHIBICIÓN POR SHAM	ESTIMULACIÓN POR AMP O GMP (VECES)
Plasmodium falciparum	25	Sí	N.D.
Trypanosmo brucei (etapa eritrocítica)	100	Sí	N.D.
Trypanosoma brucei (etapa procíclica)	5-10	Sí	N.D.
Trypanosoma cruzi	5-10	Sí	N.D.
Leishmania donovani	20	No	N.D.
Euglena gracilis	10-90[a]	Parcial	0-7[a]
Paramecium tetraurelia	15-20	Sí	5
Tetrahymena pyriformis	0-10	N.D.	N.D.
Acanthamoeba castellanii	10	Sí	8
Chlamydomonas spp.	10[b]-140	Sí	N.D.

a: dependiendo de las condiciones de cultivo y el sustrato
b: en cultivos crecidos con 2-5% de CO_2
N.D. no determinado

alternas son semejantes a las que existen en plantas, presentando la característica particular de ser estimuladas por nucleótidos monofosfatados como AMP, GMP e IMP (Tabla II). Por otra parte, existen incluso aceptores alternativos de electrones, como el fumarato; así como enzimas que permiten "saltar" segmentos de la vía típica, como la quinol:citocromo *c* oxidorreductasa distinta del complejo bc_1 que al parecer existe en cinetoplástidos y *E. gracilis* (Tabla I). Los segmentos de la cadena respiratoria que no participan en la generación de un gradiente de protones probablemente cumplen la función de mantener el flujo de electrones aun en condiciones donde existe suficiente ATP. Esto permite mantener oxidado el ambiente citosólico de manera que las reacciones metabólicas que acumulan equivalentes reductores no se detengan.

La existencia de estas redes de transportes de electrones puede relacionarse con la necesidad que tienen estos organismos unicelulares de adaptarse a condiciones en las que la concentración de oxígeno y sustratos es muy variable. Esto no ocurre en organismos pluricelulares en donde los cambios físicos y químicos en el seno de una estructura aislada del ambiente como un tejido u órgano están reducidos al mínimo. Esta idea se apoya en el hecho de que las cadenas respiratorias de muchas bacterias y hongos unicelulares también son ramificadas y poseen múltiples aceptores, donadores e intermediarios del transporte de electrones. Incluso en el caso de organismos pluricelulares que viven en ambientes cambiantes, como los moluscos de las zonas intermareales sometidos a periodos regulares de anoxia, las cadenas respiratorias poseen ramificaciones que conducen a aceptores alternos como el fumarato. En sentido evolutivo, las redes de transporte de electrones son una característica primitiva de los organismos, encontrándose a partir de los procariontes. En cuanto a los primeros eucariontes, es válido suponer que tenían cadenas ramificadas semejantes a las descritas para cinetoplástidos y euglénidos. Por lo tanto, la cadena respiratoria clásica linear de eucariontes superiores, que es la mejor caracterizada hasta el momento; es una excepción a lo que existe en la mayoría de los organismos y probablemente constituye una adaptación posterior al modo de vida pluricelular donde se mantiene constante el aporte de oxígeno a las células.

REFERENCIAS

1. Rodriguez-Marañon M J, Qiu F, Stark R E, White S P, Zhang Z, Foundling S I, Rodriguez, V, Schilling C L, Bunce R A y Rivera M (1996) 13C NMR spectroscopic and X-ray crystallo-graphic study of the role played by the mitochondrial b_5 heme propionates in the electrostatic binding to cytochrome *c*. Biochemistry *35*: 16378-16390.

2. Murphy A D, Doeller J E, Hearn B y Lang-Unnasch N (1997) *Plasmodium falciparum*: cyanide-resistant oxygen consumption. Exp Parasitol *87*: 112-120.

3. Chaudhuri M, Ajayi W y Hill G C (1998) Biochemical and molecular properties of the *Trypanosoma brucei* alternative oxidase. Mol Biochem Parasitol *95*: 53-68.

4. Turrens J (1989) The role of succinate in the respiratory chain of *Trypanosoma brucei* procyclic trypomastigotes. Biochem J *259*: 363-368.

5. Van Hellemond J J, Simons B, Millenaar F F, y Tielens A G M (1998) A gene encoding the plant-like alternative oxidase is present in *Phytomonas* but absent in *Leishmania* spp. J Euk Microbiol *45*: 426-430.

6. Santhamma K R y Bhaduri A (1995) Characterization of the respiratory chain of *Leishmania donovani* promastigotes. Mol Biochem Parasitol *75*: 43-53.

7. Speijer D, Breek C K D, Muijsers A O, Hartog A F, Berden J A, Albracht S P J, Samyn B, Van Beeumen J y Benne R (1997) Characterization of the respiratory chain from cultured *Crithidia fasciculata*. Mol Biochem Parasitol *85*: 171-186.

8. Tielens A G M y Van Hellemond J J (1998) The electron transport chain in anaerobically functioning eukaryotes. Biochim Biophys Acta *1365*: 71-78.

9. Hutson K G y Threlfall D R (1980) Biochemistry of Terpenoid Quinones and Chromanols. En: Biochemistry and Physiology of Protozoa. Editores: Levandowsky M y Hutner SH. Academic Press pp 255-286.

10. Sharpless T K y Butow R A (1970) Phosphorylation sites, cytochrome complement, and alternate pathways of coupled electron transport in *Euglena gracilis* mitochondria. J Biol Chem *245*: 50-57.

11. Uribe A y Moreno-Sánchez R (1992) Energy-dependent reactions supported by several substrates in coupled *Euglena gracilis* mitochondria. Plant Sci *86*: 21-32.

12. Moreno-Sánchez R, Covián R, Jasso-Chávez R, Rodríguez-Enríquez S, Pacheco-Moisés F y Torres-Márquez M E (2000) Oxidative phosphorylation supported by

an alternative respiratory pathway in mitochondria from *Euglena*. Biochim Biophys Acta *1457*: 200-210.

13. Berthold D A (1998) Isolation of mutants of the *Arabidopsis thaliana* alternative oxidase (ubiquinol : oxygen oxidoreductase) resistant to salicylhydroxamic acid. Biochim Biophys Acta *1364*: 73-83.

14. Sharpless T K, y Butow R A (1970) An inducible alternate terminal oxidase in *Euglena gracilis* mitochondria. J Biol Chem *245*: 58-70.

15. Devars S, Hernández R, Covián R, García-Horsman A, Barquera B y Moreno-Sánchez R (1998) The content of alternative oxidase of *Euglena* mitochondria is increased by growth in the presence of cyanide and is not cytochrome *o*. J Euk Microbiol *45*: 122-130.

16. Patterson D J (1994): Protozoa: Evolution and Systematics. En: Hausmann K y Hulsmann N (eds.): Progress in Protozoology, (Proceedings of the IX International Congress of Protozoology, Berlin 1993), pp 1-14. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York USA

17. Doussière J, Sainsard-Chanet A y Vignais P V (1979) The respiratory chain of *Paramecium tetraurelia* in wild type and the mutant Cl1. I. Spectral properties and redox potentials. Biochim Biophys Acta *548*: 224-235.

18. Doussière J y Vignais P V (1984) AMP-dependence of the cyanide-insensitive pathway in the respiratory chain of *Paramecium tetraurelia*. Biochem J *220*: 787-794.

19. Inokuchi A y Fukumori Y (1993) Purification and characterization of membrane-bound CO-reactive hemoprotein from *Tetrahymena pyriformis* mitochondria. FEMS Microbiol Lett *112*: 55-60.

20. Jarmuszkiewicz W, Wagner A M, Waner M J y Hryniewiecka L (1997) Inmunological identification of the alternative oxidase of *Acanthamoeba castellanii* mitochondria. FEBS Lett *411*: 110-114.

21. Derzaph T L M y Weger H G (1996) Inmunological identification of the alternative oxidase in *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyta). J Phycol *32*: 621-623

22. Weger H G, Guy R D y Turpin D H (1990) Cytochrome and alternative pathway respiration in green algae. Measurements using inhibitors and $^{18}O_2$ discrimination. Plant Physiol *93*: 356-360.

23. Duby F, Matagne R F (1999) Alteration of dark respiration and reduction of phototrophic growth in a mitochondrial DNA deletion mutant of *Chlamydomonas* lacking *cob*, *nd4*, and the 3' end of *nd5*. Plant Cell *11*: 115-126.

PROBLEMA BIOQUÍMICO

TEMA: Control Metabólico

Las vías metabólicas pueden simplificarse para su análisis de control, en bloques de enzimas que trabajan en un estado estacionario, donde E_1 y E_2, respectivamente, representan al conjunto de enzimas que producen y consumen a un intermediario. Por ejemplo, la regulación de la concentración de ATP es función de la actividad de las vías productoras de ATP (glicólisis, fosforilación oxidativa) y también de las vías consumidoras de ATP (síntesis de proteínas, ácidos nucleicos, lípidos, polisacáridos, etc).

$$SH_2 \xrightarrow{E_1} ATP \xrightarrow{E_2} \text{Trabajo Celular} \begin{cases} \text{Procesos anabólicos} \\ \text{Fenómenos de Transporte} \end{cases}$$

Para determinar cuál de los bloques de enzimas, el sistema consumidor o el productor de ATP, ejerce un mayor control sobre el flujo de la vía, se puede utilizar el análisis de control de las elasticidades. Esta aproximación consiste en determinar los coeficientes de elasticidad [e] de los 2 segmentos de la vía que producen y consumen ATP. Una manera sencilla de determinar experimentalmente los e consiste en modificar el flujo de la vía que cataliza E_1 y E_2, y medir el intermediario (ATP):

En células tumorales de AS-30D, el flujo de E_1 y E_2 (medido como respiración celular) fue titulado con inhibidores de los dos segmentos de la vía: oligomicina (100-500 pmol/10^7cels) ó estreptomicina (0.1-0.5 mg/10^7cels) respectivamente. En cada condición experimental se cuantificó la cantidad de ATP.

Condición	Respiración celular ngAO/min/10^7cels		ATP nmol/10^7cels	
		*%		*%
Control	60	100	1.88	100
Oligomicina				
100	54.6	91	1.43	76.0
200	50.7	84.5	1.29	68.5
300	49.4	82.3	1.12	59.5
400	47.6	79.4	1.01	53.7
500	47.0	78.3	1.00	53.1
Estreptomicina				
0.1	58.8	98	2.20	113
0.2	57.6	96	2.25	120
0.3	55.8	93	2.44	130
0.5	54.6	91	2.63	140

*% con respecto al control

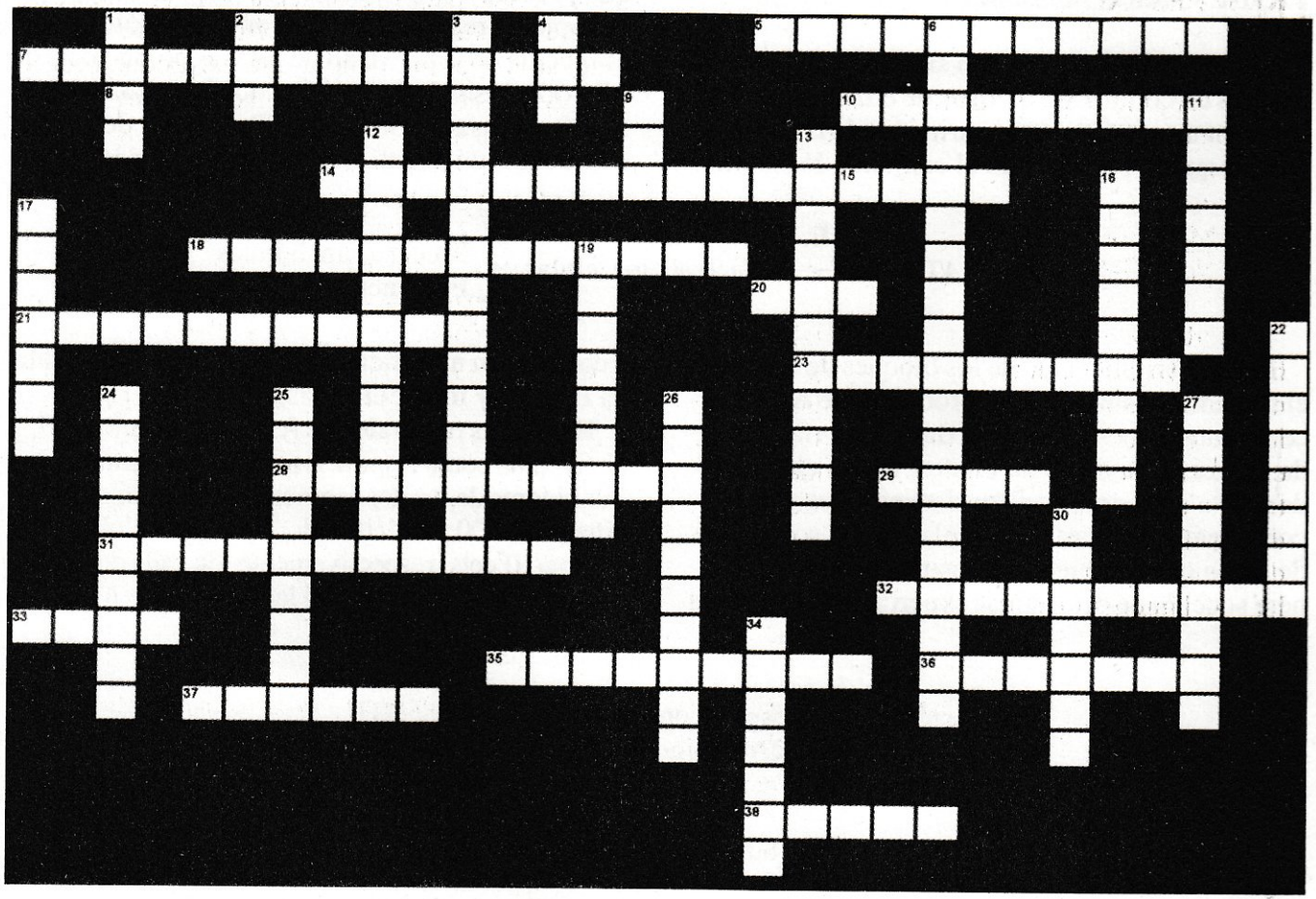
Determinar los coeficientes de elasticidad y los coeficientes de control de flujo de cada bloque de enzimas.

BEB *19*(4): 238

CRUCIBIOQ

Yolanda Saldaña Balmori

VITAMINAS



HORIZONTALES

5. Su forma activa se encuentra en FMN y FAD, coenzimas que intervienen en reacciones redox.
7. Se clasifican en dos grupos: las deshidrogenasas y las oxidasas.
8. La deficiencia de esta vitamina impide la formación adecuada de hueso durante el crecimiento.
10. Genera coenzimas que participan en la transaminación de los aminoácidos.
14. Acción que es inhibida por la vitamina E presente en las membranas.
18. Dentro de este grupo quedan incluidos el ácido ascórbico y el complejo vitamínico B.
20. Número de vitamina B que es precursor del FAD.
21. Cofactor de la coagulación sanguínea; pertenece a la misma familia que la ubiquinona.
23. Enfermedad que por deficiencia de una vitamina la padecían en altamar.
28. Es un derivado del colesterol.
29. Número de vitamina B que su ausencia ocasiona daños neurológicos.
31. Molécula que participa en la tiamina para construir la forma coenzimática.
32. Ácido que puede sintetizarse a partir de triptófano, pero que debe ingerirse en la dieta.
33. Número de vitamina B, forma bases de Schiff en reacciones con aminotransferasas.
35. Es indispensable para la hidroxilación de la prolina que se requiere en la síntesis de la colágena.
36. Base nitrogenada que participa con flavina o niacina y que tiene función coenzimática.
37. Ácido monopteroilglutámico, en la forma de tetrahidrofolato participa en la síntesis de las purinas.
38. Dinucleótido, contiene tres fosfatos, se produce en la ruta del fosfogluconato.

VERTICALES

1. Coenzima reducida, con nicotinamida, transporta hidrógenos y electrones en óxido-reducción.
2. Proviene de una vitamina B; unida a la piruvato deshidrogenasa, participa en la descarboxilación.
3. Su ausencia es responsable de la anemia perniciosa que ocasiona fatiga y debilidad general.
4. Es la forma oxidada de la flavina adenina dinucleótido.
6. Enzimas ligadas a flavina y a fierro no hémico; tiene capacidad redox.
9. Número de vitamina B que activada, participa en la descarboxilación del piruvato.
11. Ácido, cofactor de la piruvato deshidrogenasa, con dos grupos SH, al oxidarse da disulfuro.
12. Se asocia con este término a las vitaminas A, D, E y K.
13. Vitamina de la conezima A, la cual interviene en la activación de los grupos acilo.
15. Vitamina presente en los cítricos.
16. Función de los conos y los bastones, asociada con la luz.
17. Forma en la que el piridoxal se activa y es coenzima en reacciones de los aminoácidos.
19. Enfermedad ocasionada por la disminución en la ingesta de tiamina al consumir arroz descascarillado.
22. En su forma beta, es precursor de la vitamina antixeroftálmica.
24. Proteína de la retina; por reacción endergónica absorbe un fotón y da retinal y opsina.
25. Vitamina que actúa como un inhibidor de la peroxidación de los lípidos en las membranas celulares.
26. Precursor de una vitamina que se sintetiza por la acción de los rayos ultravioleta sobre la piel.
27. Moléculas indispensables en la dieta, algunas forman parte de las coenzimas.
30. Una dioxigenasa rompe al beta caroteno y produce un pigmento esencial para la visión.
34. Se pirofosforila, cofactor necesario entre otros, para la descarboxilación del piruvato.

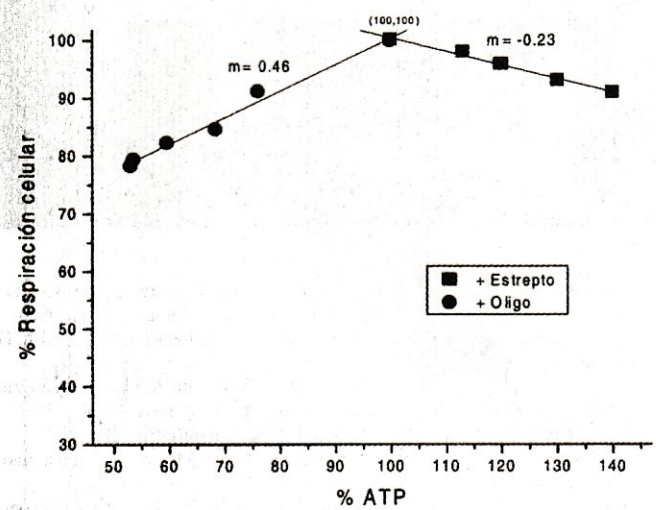
PROBLEMA BIOQUÍMICO

RESPUESTA:

Los coeficientes de elasticidad (grado de respuesta) de los 2 bloques de enzimas al variar la concentración de ATP se calculan a partir de la siguiente ecuación:

$$\varepsilon = \frac{Mo}{Vo}\left[\frac{\delta V}{\delta M}\right]_{ss}$$

Donde *Mo* es la concentración inicial del metabolito y *Vo* es la velocidad inicial; *Mo* y *Vo* están normalizados al 100% y tienen el mismo valor, por lo que el cociente Mo/Vo es igual a 1. $(\delta V/\delta M)_{ss}$ es la variación infinitesimal de la actividad enzimática cuando se varía la concentración del intermediario *M* y se calcula experimentalmente de la pendiente de la gráfica del flujo (% respiración celular) *vs* el intermediario (% ATP), tal como se muestra en la siguiente figura:



Como se observa, se obtienen 2 rectas desde el punto de origen (100,100). Este punto se obtuvo de los valores de respiración y concentración de ATP en estado estacionario, en ausencia de inhibidor. De este gráfico se pueden obtener los coeficientes de elasticidad de los 2 bloques de enzimas participantes en el sistema:

Al disminuir el flujo de E_2 con estreptomicina, se puede determinar el grado de respuesta (coeficiente de elasticidad) del bloque E_1 hacia el intermediario que comparte con E_2. El coeficiente de elasticidad para E_1 se calcula de la pendiente de la recta obtenida al titular el flujo de E_2, con signo negativo porque denota que es producto de E_1= –0.23. De la misma forma, el coeficiente de elasticidad del bloque E_2 se obtiene de la pendiente de la recta al titular el flujo con oligomicina (inhibidor del bloque E_1). En este caso, el valor del coeficiente de elasticidad es positivo porque denota que es sustrato de E_2 (0.46).

Los coeficientes de control de flujo (Co) pueden cuantificarse utilizando el teorema de la conectividad [ecuación (1)], que establece un formalismo entre ε y Co; y la propiedad de la sumatoria [ecuación (2)] que establece que la suma de los coeficientes de control de flujo de las enzimas que integran la vía metabólica es igual a la unidad (100%).

$$C_{E1}^{J}\varepsilon_{ATP}^{E1} = -C_{E2}^{J}\varepsilon_{ATP}^{E2} \quad \text{.....(1)}$$
$$C_{E1}^{J} + C_{E2}^{J} = 1 \quad \text{..... (2)}$$

De tal manera que se tiene un sistema de ecuaciones con 2 incógnitas.

Sustituyendo los valores de los coeficientes de elasticidad de cada segmento:

$$C_{E1}^{J}(-0.23) = -C_{E2}^{J}(0.46) \quad \text{.....(1)}$$

Sustituyendo en términos de una sola variable (ecuación 2):

$$C_{E1}^{J}(0.23) = 0.46\,[1 - C_{E1}^{J}] = 0.46 - 0.46\,C_{E1}^{J}$$

$$0.23\,C_{E1}^{J} + 0.46\,C_{E1}^{J} = 0.46$$

$$C_{E1}^{J} = \frac{0.46}{0.69}$$

$$C_{E1}^{J} = 0.66$$

Sustituyendo en la ecuación (2):

$$C_{E2}^{J} = 0.34$$

El coeficiente de elasticidad de E_1 es menor que el obtenido para E_2 (-0.23 *vs* 0.46, respectivamen-

te). Lo anterior significa que E_1 tiene una menor respuesta (es menos sensible) a las variaciones en la [ATP] que E_2; es decir, la actividad de E_1 se encuentra más cerca de la saturación por ATP, en este particular estado estacionario. Por lo tanto, la actividad de E_1 varía poco al modificar la [ATP]; es decir, se trata de un bloque de enzimas que controla notoriamente el flujo (su coeficiente de control es alto). En cambio, E_2 puede responder más rápidamente a las variaciones de ATP (ε más alto), compensando más fácilmente cualquier cambio en la [ATP] con cambios en su velocidad. Como consecuencia, la actividad de E_2 tiene un efecto menor en el flujo; es decir, su coeficiente de control es pequeño (0.34).

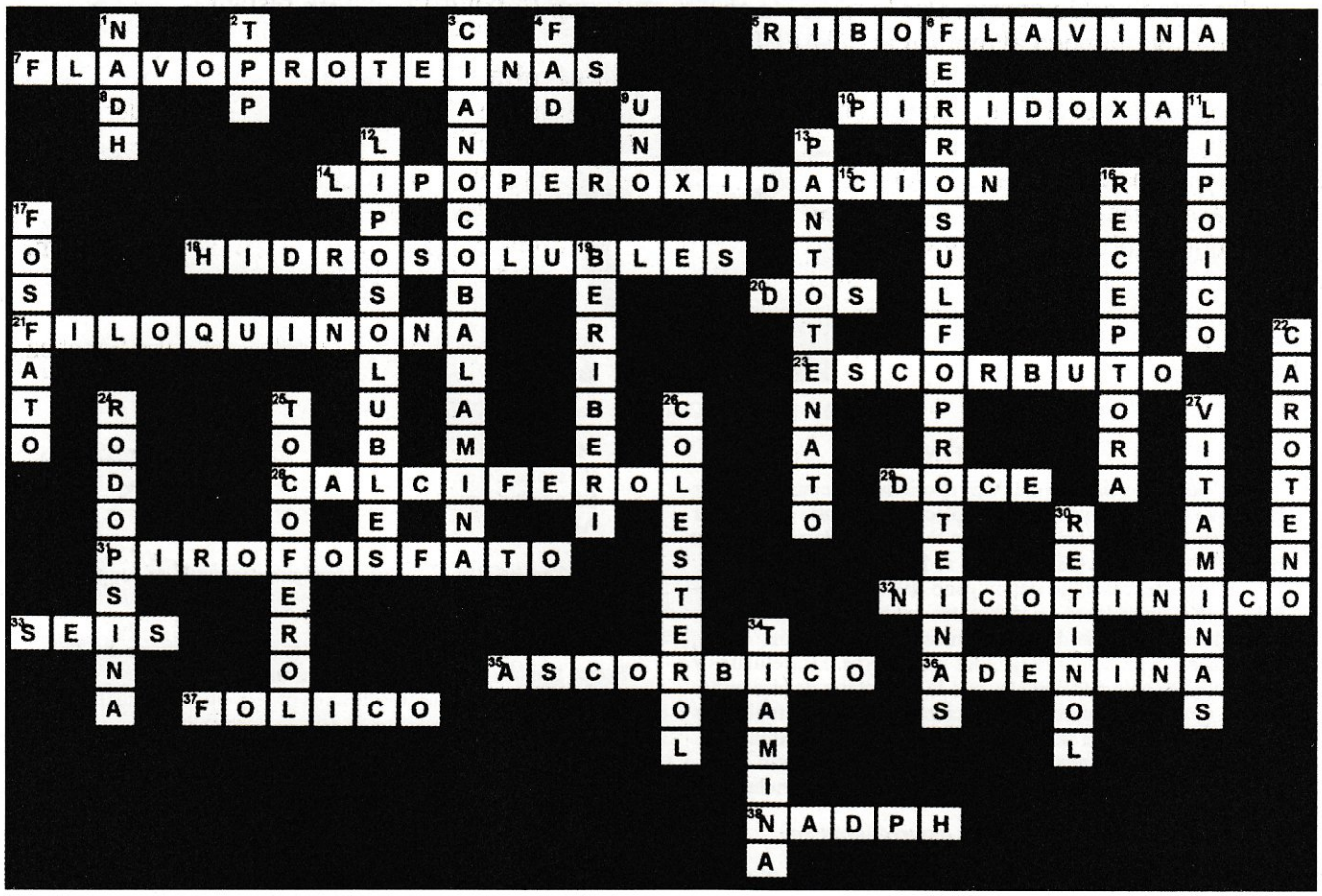
Entonces, E_1 es el bloque de enzimas más limitante en células tumorales AS-30D en estado proliferativo, porque presenta un Co más alto (0.66), controlando un 66% del flujo total de la vía; mientras que E_2 controla el 34% restante.

Bibliografía

1. Westerhoff HV, Groen AK, and Wanders RJA (1984). Biosci. Rep. *4*: 1-22.
2. Fell D (1992). Biochem. J. *286*: 313-330.
3. Rodríguez-Enríquez S., Torres-Márquez ME, and Moreno-Sánchez R. (2000). Arch. Biochem. Biophys. *375*: 21-30.

Sara Rodríguez-Enríquez y Rafael Moreno Sánchez

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ



FE DE ERRATAS

En el artículo de revisión: "Función de las Membranas Celulares Durante la Regeneración Hepática", con cita BEB 19(3):138-145, se omitieron los siguientes agradecimientos:

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Dr Rolando Hernández Muñoz sus valiosos comentarios y al Sr Alejandro García Hidalgo, por su apoyo en la elaboración de los esquemas de este trabajo. Los trabajos reportados por los autores han sido apoyados parcialmente por el CONACyT y el programa PAPIIT (UNAM).

En el CRUCIBIOQ publicado en el BEB de septiembre de 2000, 19(3):183, en relación con QUÍMICA DE LÍPIDOS, en el número 21 de HORIZONTALES, **DICE:** Al esterilizarse con tres ácidos grasos, constituye el almacén de energía más abundante en los mamíferos. **DEBE DECIR:** Al esterificarse con tres ácidos grasos, constituye el almacén de energía más abundante en los mamíferos.

En el número 17 de VERTICALES, **DICE:** Precursor de hormonas cortiosuprarrenales y sexuales. **DEBE DECIR:** Precursor de hormonas corticosuprarrenales y sexuales.

BEB *19*(4): 242

IV SIMPOSIO
ESTRÉS OXIDATIVO EN BIOMEDICINA

Julio 16-18, 2001, Ciudad de La Habana, Cuba

INVITACIÓN

El Comité Organizador del IV Simposio Internacional de Estrés Oxidativo en Biomedicina, tiene el placer de invitarle a participar en nuestro evento que tendrá lugar en el Centro de Investigaciones Biomédicas "Victoria Girón" del 16 al 18 de julio del 2001.

Las especies reactivas del oxígeno (EROs) por medio de señales redox intervienen en diferentes procesos biológicos mediante la estimulación de mecanismos de transducción.

Estas especies activan segundos mensajeros intracelulares y están íntimamente relacionadas con la biosíntesis de citoquinas que se convierten en señales de comunicación intercelulares determinantes para el desarrollo de la respuesta inflamatoria.

En estos días de intercambio científico se impartirán conferencias y se realizarán presentaciones orales y de carteles.

Los principales tópicos que se desarrollarán son:

* Mediadores de la comunicación intercelular y la respuesta oxidativa.
* Apoptosis.
* Respuesa inflamatoria sistémica.
* Mecanismos regulatorios de la rspuesta oxidativa.
* Estrés oxidativo y enfermedad.
* Endotelio, oxidación de LDL y ateroesclerosis.
* Antioxidantes como moduladores de la respuesta oxidativa.
* Piel: ¿Blanco o generador de estrés oxidativo?
* Estrés oxidativo y envejecimiento.

Inscripción

* Médicos especialistas y otros profesionales	50.00
* Médicos residentes y reserva científica	30.00

No. de cuenta: 012421110391048

CUPÓN DE INSCRIPCIÓN

Nombre y apellidos_____
Institución_____
Dirección_____
Teléfono_____
Fax_____
Email_____
Tipo de participación:_____
Conferencia_____Cartel_____
Mesa redonda_____
Presentación oral_____
Sólo participar_____
Alojamiento_____

El Comité Organizador estará muy gustoso de contar con su participación.

Enviar resumen y artículo antes del 31 de enero del 2001. Fecha límite de inscripción sin recargo.

Envíe tres copias del resumen en papel y una del artículo completo en soporte informático de 3.5 pulgadas utilizando Microsoft Word (Times New Roman 10).

La extensión máxima será de ocho cuartillas para los trabajos originales, 12 las revisiones y cuatro las comunicaciones breves e informes de casos, incluidas las tablas y figuras.

La primera página contendrá el nombre de la institución que auspicia el trabajo, el título que no excederá las 15 palabras, nombres y apellidos completos de todos los autores ordenados según su participación, grado científico y categoría docente o investigativa más importante de cada autor.

La segunda página incluirá un resumen informativo de 150 palabras, como máximo, contentivo de los propósitos, procedimientos empleados, resultados más relevantes y principales conclusiones del trabajo al igual que cualquier aspecto novedoso.

Las referencias bibliográficas deben cumplir con las normas de Vancouver.

Los resultados y discusión deben presentarse separados. Las tablas, modelos y anexos no se intercalarán en el artículo.

Fecha límite de inscripción 31 de mayo del 2001 con recargo del 20 por ciento.

Coauspiciadores:
CIREN
CIS LA PRADERA
CQF, IFAL, CENATOX, CIO, CNIC.

Para mayor información contactar a:
Dra. Niurda Llópiz Janer. Sec. Comisión Científica
ICBP "Victoria de Girón". 146 No. 3102, Cubanacán,
Playa 11600, Ciudad La Habana, CUBA
Fax: 537337853
Email: niurka@giron.sld.cu

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

CONVOCATORIA

Investigadores Estudiantes

¡Envíen sus contribuciones científicas a

TIP REVISTA ESPECIALIZADA EN CIENCIAS QUÍMICO-BIOLÓGICAS

para su publicación!

TIP **REVISTA ESPECIALIZADA EN CIENCIAS QUÍMICO-BIOLÓGICAS** de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM es una publicación periódica y con arbitraje que difunde información científica sobre temas de botánica y zoología; ecología; microbiología; bioquímica; fisicoquímica; física; matemáticas; farmacia; química general, orgánica e inorgánica.

La revista es un foro para recibir trabajos de carácter interdisciplinario escrito por investigadores científicos, pero también pretende cubrir un espacio como es el publicar los resultados de investigaciones de tesis de estudiantes de grado, debidamente asesorados, de cualquier institución, tanto nacional como internacional.

Se aceptan trabajos de investigación científica original e inédita, artículos breves, artículos de revisión, ensayos y notas científicas en español e inglés.

Las personas interesadas en la publicación de sus trabajos de investigación o que soliciten información complementaria, deberán dirigirse a:

PROGRAMA EDITORIAL
División de Estudios de Posgrado e Investigación, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. Batalla del 5 de Mayo, esq. Fuerte de Loreto, Col. Ejército de Oriente, C.P. 09230. Tel. y fax: 57.73.63.32; e-mail: revistatip@yahoo.com; terrones@fenix.ifisicacu.unam.mx **(DR. HUMBERTO TERRONES, EDITOR).**

BEB *19*(4): 244

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

Nombre completo: _____

Asociado: NUMERARIO ☐ ESTUDIANTE ☐

Cuota cubierta: $300 pesos ☐ $150 pesos ☐

Nombramiento: _____

Profesor de Bioquímica: SI ☐ NO ☐

Otra materia: _____

Carrera en la que imparte clase: _____

ADSCRIPCIÓN

Departamento: _____

Facultad o escuela: _____

Universidad: _____

DIRECCIÓN DE LA INSTITUCIÓN

Calle y número: _____

Colonia: _____

Ciudad o estado: _____

Código postal: _____ **Apartado postal:** _____

Teléfono: ( ) ___-___ -___ , **Fax:** ( ) ___-___ -___

Correo electrónico: _____

DOMICILIO PARTICULAR

Calle y número: _____

Colonia: _____

Ciudad y estado: _____

Código postal: _____

Teléfono: ( ) ___-___ -___

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 de 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.

ÍNDICE ANUAL DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 2000

AUTORES DE EDITORIALES

Calderón Salinas José Víctor. A la memoria de la Señora Elisa Mora. BEB *19*(4):202-203.

Chávez Cossío Edmundo y Zentella Dehesa Alejandro. Se establece un nuevo programa de vinculación entre la Sociedad Mexicana de Bioquímica y la Asociación Mexicana de profesores de Bioquímica. BEB *19*(3):136-137.

Pérez Montfort Ruy y Zentella Dehesa Alejandro. Publicación electrónica de revisiones del BEB en la página electrónica de la SMB: Colaboración entre dos Asociaciones preocupadas por apoyar la enseñanza de la Bioquímica. BEB *19*(1):4-8.

Zentella Dehesa Alejandro. Cambio y continuidad. BEB *19*(2):76-77.

AUTORES DE ARTÍCULOS

Alcántara Hernández Rocío. Fosfatasas de proteínas: Mecanismos moleculares de regulación. BEB *19*(3):164-173.

Boffill Cárdenas María. Los flavonoides, antioxidantes naturales. BEB *19*(2):95-100.

Castrejón Téllez Vicente. El papel del potasio durante la isquemia. BEB *19*(3):158-163.

Cervantes Carlos. Mecanismos de expulsión de metales tóxicos en bacterias. BEB *19*(1):24-31.

Cervantes Carlos, Alvarez Angel H, Ramírez Martha I y Vargas Eréndira. Expulsión de arsenito y cromato en bacterias. BEB *19*(2):103-109

Covián Raúl. Cadenas respiratorias en protistas. BEB *19*(4):226-236.

Delgado-Coello Blanca A y Mas-Oliva Jaime. Función de las membranas celulares durante la regeneración hepática. BEB *19*(3):138-145.

Díez-González Tomás Alberto. Química Orgánica: Un enfoque biomédico. BEB *19*(1):36-42.

Flores-Herrera Oscar, Pardo Juan Pablo y Martínez Federico. La participación del efecto hidrofóbico y de los puentes de hidrógeno intramoleculares en la estabilidad conformacional de las proteínas. BEB *19*(3):146-157.

Lastra María Dolores, García Oliva Felipe, Castellanos Norma, Ortega Raquel y Oliva Magdalena. La especialidad en bioquímica clínica de la Facultad de Química de la UNAM, a 10 años de su nacimiento. BEB *19*(4):219-225.

Lira Ruan Katerina, Aréchaga Ocampo Elena, Ramírez Yáñez Mario, Sánchez Sánchez Miriam y Arredondo Peter Raúl. Las hemoglobinas no simbióticas de las plantas. BEB *19*(2):87-94

Lledías Fernando. Papel esencial de las especies reactivas de oxígeno (ERO) en la transducción de señales. BEB *19*(4):212-218.

Ortuño Olea Leobardo y Durán Vargas Socorro. Las asparaginasas de microorganismos y su uso clínico. BEB *19*(1):9-15.

Pacheco Moisés Fermín, Bravo Peralta Ma. Concepción y García Trejo José de Jesús. Mecanismos de regulación de la FoF1-ATPasa de bacterias. BEB *19*(4):204-211.

Peinado Héctor y Liras Antonio. Estudio computarizado de la predicción estructural comparada de las carnitina palmitoiltransferasas. BEB *19*(1):16-23.

Raya Pérez Juan Carlos. La fotosíntesis, las reacciones luminosas. BEB *19*(2):78-86.

Reynoso-Ducoing Olivia A, Cruz-Rivera Mayra Y, Ambrosio Javier y Flisser Ana. Las actinas y su estudio en parásitos. BEB *19*(1):32-35.

Zentella de Piña Martha, Pimentel Velásquez Lenka, Vázquez Meza Héctor, Piña Zentella Guadalupe y Riveros Rosas Héctor. Nuevas acciones de los antiinflamatorios no esteroideos. BEB *19*(3):174-181.

AUTORES DE OTRAS COMUNICACIONES

Covián Raúl y Moreno Sánchez Rafael. Problema Bioquímico. Cinética enzimática. BEB *19*(1):52.

Covián Raúl y Moreno Sánchez Rafael. Respuesta al Problema Bioquímico. Cinética enzimática. BEB 19(1):54.

Morales López Sara, Juárez Oropeza Marco Antonio, Pardo Vázquez Juan Pablo y Martínez Montes Federico. Informe del XXIV Taller de Actualización Bioquímica. BEB *19*(1):47-50.

Rodríguez-Enríquez Sara y Moreno Sánchez Rafael. Problema Bioquímico. Control Metabólico. BEB *19*(4):237.

Rodríguez-Enriquez Sara y Moreno Sánchez Rafael. Respuesta al Problema Bioquímico. Control Metabólico BEB *19*(4):239-240.

Saldaña Balmori Yolanda. CRUCIBIOQ. Enzimas. BEB *19*(1):53.

Saldaña Balmori Yolanda. Solución al CRUCIBIOQ. Enzimas. BEB *19*(1):55.

Saldaña Balmori Yolanda. CRUCIBIOQ. Química de carbohidratos. BEB *19*(2):113.

Saldaña Balmori Yolanda. Solución al CRUCIBIOQ. Química de carbohidratos. BEB *19*(2):116.

Saldaña Balmori Yolanda. CRUCIBIOQ. Química de lípidos. BEB *19*(3):183.

Saldaña Balmori Yolanda. Solución al CRUCIBIOQ. Química de lípidos. BEB *19*(3):186.

Saldaña Balmori Yolanda. CRUCIBIOQ. Vitaminas. BEB *19*(4):238.

Saldaña Balmori Yolanda. Solución al CRUCIBIOQ. Vitaminas. BEB *19*(4):241.

Sánchez Esquivel Sergio. Comentarios sobre libros de reciente publicación. Vida, orden y caos: propuestas para nuevos enfoques en biología. BEB *19*(1):51.

Varela Gómez Marcela y Moreno Sánchez Rafael. Problema Bioquímico. Cinética enzimática. BEB *19*(2):112.

Varela Gómez Marcela y Moreno Sánchez Rafael. Respuesta al Problema Bioquímico. Cinética enzimática. BEB *19*(2):114-115.

Varela Gómez Marcela y Moreno Sánchez Rafael. Problema Bioquímico. Cinética enzimática. Inactivación Térmica. BEB *19*(3):182.

Varela Gómez Marcela y Moreno Sánchez Rafael. Respuesta al Problema Bioquímico. Cinética enzimática. Inactivación Térmica. BEB *19*(3):184-185.

Zentella Dehesa Alejandro. Günter Bloble, premio nobel 2000: Los códigos postales de la célula y el mecanismo molecular que determina el destino subcelular de cada proteína. BEB *19*(1):43-46.

Zentella Dehesa Alejandro. Comentarios sobre libros de reciente publicación. Las citocinas en la hematopoyesis y Sistema inmunológico: Mecanismos celulares y moleculares. BEB *19*(2):110-111.

TÍTULOS DE EDITORIALES

A la memoria de la Señora Elisa Mora. Calderón Salinas José Víctor. BEB *19*(4):202-203.

Cambio y Continuidad. Zentella Dehesa Alejandro. BEB *19*(2):76-77.

Publicación electrónica de revisiones del BEB en la página electrónica de la SMB: Colaboración entre dos Asociaciones preocupadas por apoyar la enseñanza de la Bioquímica. Pérez Montfort Ruy y Zentella Dehesa Alejandro. BEB *19*(1):4-8.

Se establece un nuevo programa de vinculación entre la Sociedad Mexicana de Bioquímica y la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica. Chávez Cossío Edmundo y Zentella Dehesa Alejandro. BEB *19*(3):136-137.

TÍTULOS DE ARTÍCULOS

Cadenas respiratorias en protistas. Covián Raúl. BEB *19*(4):226-236.

El papel del potasio durante la isquemia. Castrejón Téllez Vicente. BEB *19*(3):158-163.

Estudio computarizado de la predicción estructural comparada de las carnitina palmitoiltransferasas. Peinado Héctor y Liras Antonio. BEB *19*(1):16-23.

Expulsión de arsenito y cromato en bacterias. Cervantes Carlos, Alvarez Angel H, Ramírez Martha I y Vargas Eréndira. BEB *19*(2):103-109.

Fosfatasas de proteínas: Mecanismos moleculares de regulación. Alcántara Hernández Rocío. BEB *19*(3): 164-173.

Función de las membranas celulares durante la regeneración hepática. Delgado-Coello Blanca A y Mas-Oliva Jaime. BEB *19*(3):138-145.

La especialidad en bioquímica clínica de la Facultad de Química de la UNAM, a 10 años de su nacimiento. Lastra María Dolores, García Oliva Felipe, Castellanos Norma, Ortega Raquel y Oliva Magdalena. BEB *19*(4):219-225.

La fotosíntesis, las reacciones luminosas. Raya Pérez Juan Carlos. BEB *19*(2):78-86.

La participación del efecto hidrofóbico y de los puentes de hidrógeno intramoleculares en la estabilidad conformacional de las proteínas. Flores-Herrera Oscar, Pardo Juan Pablo y Martínez Federico. BEB *19*(3):146-157.

Las actinas y su estudio en parásitos. Reynoso-Ducoing Olivia A, Cruz-Rivera Mayra Y., Ambrosio Javier y Flisser Ana. BEB *19*(1):32-35.

Las asparaginasas de microorganismos y su uso clínico. Ortuño Olea Leobardo y Durán Vargas Socorro. BEB *19*(1):9-15

Las hemoglobinas no simbióticas de las plantas. Lira Ruan Katerina, Aréchaga Ocampo Elena, Ramírez Yáñez Mario, Sánchez Sánchez Miriam y Arredondo Peter Raúl. BEB *19*(2): 87-94.

Los flavonoides, antioxidantes naturales. Boffill Cárdenas María. BEB *19*(2):95-100.

Mecanismos de expulsión de metales tóxicos en bacterias. Cervantes Carlos. BEB *19*(1):24-31.

Mecanismos de Regulación de la FoF1-ATPasa de Bacteria. Pacheco Moisés Fermín, Bravo Peralta Ma. Concepción y García Trejo José de Jesús. BEB *19*(4):204-211.

Nuevas acciones de los antiflamatorios no esteroides. Zentella de Piña Martha y Pimentel Velásquez Lenka, Vázquez Meza Héctor, Piña Zentella Guadalupe y Riveros Rosas Héctor. BEB *19*(3):174-181.

Papel esencial de las especies reactivas de oxígeno (ERO) en la transducción de señales. Lledías Fernando. BEB *19*(4):212-218.

Química Orgánica: Un enfoque biomédico. Díez-González Tomás Alberto. BEB *19*(1):36-42.

TÍTULOS DE OTRAS COMUNICACIONES

Comentarios sobre libros de reciente publicación. Vida, orden y caos: propuestas para nuevos enfoques en biología. Sánchez Esquivel Sergio. BEB *19*(1):51.

Comentarios sobre libros de reciente publicación. Las citocinas en la hematopoyesis y Sistema inmunológico: Mecanismos celulares y moleculares. Zentella Dehesa Alejandro. BEB *19*(2):110-111.

CRUCIBIOQ. Enzimas. Saldaña Balmori Yolanda. BEB *19*(1):53.

CRUCIBIOQ. Química de carbohidratos. Saldaña Balmori Yolanda. BEB *19*(2):113.

CRUCIBIOQ. Química de lípidos. Saldaña Balmori Yolanda. BEB *19*(3):183.

CRUCIBIOQ. Vitaminas. Saldaña Balmori Yolanda. BEB *19*(4):238.

Günter Bloble, premio nobel 2000: Los códigos postales de la célula y el mecanismo molecular que determina el destino subcelular de cada proteína. Zentella Dehesa Alejandro. BEB *19*(1):43-46.

Informe del siglo XXIV Taller de. Actualización Bioquímica. Morales López Sara, Juárez Oropeza Marco Antonio, Pardo Vázquez Juan Pablo y Martínez Montes Federico. BEB *19*(1):47-50.

Problema Bioquímico. Cinética enzimática. Covián Raúl y Moreno Sánchez Rafael. BEB *19*(1):52.

Problema Bioquímico. Cinética enzimática. Varela Gómez Marcela y Moreno Sánchez Rafael. BEB *19*(2):112.

Problema Bioquímico. Cinética enzimática. Inactivación Térmica. Varela Gómez Marcela y Moreno Sánchez Rafael. BEB *19*(3):182.

Problema Bioquímico. Control Metabólico. Rodríguez-Enríquez Sara y Moreno Sánchez Rafael. BEB *19*(4):237.

Respuesta al Problema Bioquímico. Cinética enzimática. Covián Raúl y Moreno Sánchez Rafael. BEB *19*(1):54.

Respuesta al Problema Bioquímico. Cinética enzimática. Varela Gómez Marcela y Moreno Sánchez Rafael. BEB *19*(2):114-115.

Respuesta al Problema Bioquímico. Cinética enzimática. Inactivación Térmica. Varela Gómez Marcela y Moreno Sánchez Rafael. BEB *19*(3):184-185.

Respuesta al Problema Bioquímico. Control Metabólico. Rodríguez-Enríquez Sara y Moreno Sánchez Rafael. BEB *19*(4):239-240.

Solución al CRUCIBIOQ. Enzimas. Saldaña Balmori Yolanda. BEB *19*(1):55.

Solución al CRUCIBIOQ. Química de carbohidratos. Saldaña Balmori Yolanda. BEB *19*(2):116.

Solución al CRUCIBIOQ. Química de lípidos. Saldaña Balmori Yolanda. BEB *19*(3):186.

Solución al CRUCIBIOQ. Vitaminas. Saldaña Balmori Yolanda. BEB *19*(4):241.

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

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

I. ARTÍCULOS DE REVISIÓN

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

BEB 2000 Vol 19 Núm 4 Diciembre de 2000

CONTENIDO

EDITORIAL

A LA MEMORIA DE LA SEÑORA ELISA MORA
José Víctor Calderón Salinas 202

ARTÍCULOS

MECANISMOS DE REGULACIÓN DE LA F_0F_1-ATPasa DE BACTERIAS
Fermín Pacheco Moisés, Ma. Concepción Bravo Peralta y José de Jesús García Trejo 204

PAPEL ESENCIAL DE LAS ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO (ERO) EN LA TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES
Lledías Fernando 212

LA ESPECIALIDAD EN BIOQUÍMICA CLÍNICA DE LA FACULTAD DE QUÍMICA DE LA UNAM, A 10 AÑOS DE SU NACIMIENTO
María Dolores Lastra, Felipe García Oliva, Norma Castellanos, Raquel Ortega y Magdalena Oliva 219

CADENAS RESPIRATORIAS EN PROTISTAS
Raúl Covián 226

OTRAS COMUNICACIONES

PROBLEMA BIOQUÍMICO. CONTROL METABÓLICO
Sara Rodríguez-Enríquez y Rafael Moreno Sánchez 237

CRUCIBIOQ. VITAMINAS
Yolanda Saldaña Balmori 238

RESPUESTA AL PROBLEMA BIOQUÍMICO
Sara Rodríguez-Enríquez y Rafael Moreno Sánchez 239

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ
Yolanda Saldaña Balmori 241

FE DE ERRATAS 241

CONVOCATORIAS

IV SIMPOSIO ESTRÉS OXIDATIVO EN BIOMEDICINA. Invitación 242

TIP REVISTA ESPECIALIZADA EN CIENCIAS QUÍMICO-BIOLÓGICAS. FES-ZARAGOZA
Convocatoria 243

CORRESPONSALES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 245

ÍNDICE ANUAL DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 2000 246

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 250