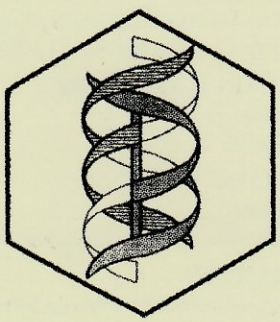
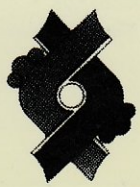
ISSN-1665-1995

REB 2002

REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA



Órgano de información de la
Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, AC



Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM

Facultad de Medicina UNAM

Sociedad Mexicana de Bioquímica, AC

EDITADO DESDE 1982 COMO BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

Vol. 21 No. 4 DICIEMBRE 2002

COMITÉ EDITORIAL

EDITORES FUNDADORES

GUILLERMO CARVAJAL SANDOVAL
Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias
e Instituto Politécnico Nacional

JESÚS MANUEL LÉON CAZARES
Facultad de Ciencias Naturales
Universidad Autónoma de Querétaro

ENRIQUE PIÑA GARZA
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

YOLANDA SALDAÑA BALMORI
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

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

EDITORES

SOCORRO CONCEPCIÓN DURÁN VARGAS
Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

MARCO ANTONIO JUÁREZ OROPEZA
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

FEDERICO MARTÍNEZ MONTES
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

GRACIELA MEZA RUIZ
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

RAFAEL MORENO SÁNCHEZ
Instituto Nacional de Cardiología
"Dr. Ignacio Chávez"

ROSARIO ADELAIDA MUÑOZ CLARES
Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

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

YOLANDA SALDAÑA BALMORI
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

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

EDITOR EN JEFE

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

COORDINADOR DE CORRESPONSALES

YOLANDA SALDAÑA BALMORI
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

EDITORES ASOCIADOS

MARINA GAVILANES RUIZ
Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

ELIZABETH LANGLEY McCARRON
Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

FERNANDO MONTIEL AGUIRRE
Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

ASISTENTE EDITORIAL

MARIVEL ROJAS GARCÍA
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

JOSÉ CARLOS GARCÍA PIÑEIRO
Instituto de Ciencias Básicas "Victoria de Girón"
Instituto Superior de Ciencias Médicas. La Habana, Cuba

JESÚS RUBÉN GARCILASO PÉREZ
Facultad de Química
Universidad de Sonora

GUADALUPE OLIVA
Facultad de Medicina
Universidad Autónoma de Tamaulipas, Matamoros, Tamps.

KATERINA LIRA RUÁN
Centro de Investigación sobre Fijación de Nitrógeno
Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Mor.

MARÍA DEL CARMEN RÍOS DE MOLINA
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Universidad de Buenos Aires, Argentina

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)

REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (REB), publicación trimestral editada por la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C. Con domicilio en el Departamento de Bioquímica, de la Facultad de Medicina, UNAM. Correspondencia: Comité Editorial, Apartado Postal 70-281, Coyoacán, CP 04510, México, D.F. Certificados de: Licitud de Título: 12000; Licitud de Contenido: 8397; No. de Expediente: 1/432"2"/15792; Reserva al título en derecho de autor No. 04-2002-030616225500102 **Diseño:** Antonio Pedraza Cabrera. Impresa en los tallleres de Impulsora de Periodismo Mexicano, S.A. de C.V. Gabino Barreda No. 86 Col. San Rafael , México 06470 D.F. Tiraje: 1,500 ejemplares. Distribuidor Servicio Postal Mexicano, Reg. No. PP09-1001; UNAM- Departamento de Bioquímica y Facultad de Medicina.

El contenido de los articulos y las opiniones expresas en ellos son responsabilidad de los autores y no reflejan necesariamente la del Comité Editorial.

REB 2002 Vol. 21 Núm 4 Diciembre de 2002

CONTENIDO

EDITORIAL

UN VISIONARIO, DOS ALUMNOS Y UN GUSANO: EL PREMIO NOBEL 2002 EN MEDICINA
Alejandro Zentella Dehesa 227

ARTÍCULOS

METABOLISMO ANAEROBIO EN EUCARIOTES INFERIORES II. MITOCONDRIAS ANAEROBIAS
Irene Patricia del Arenal Mena, Alberto Guevara Flores, Alicia Cea Bonilla
y José Edgardo Escamilla Marván 229

MECANISMOS MOLECULARES DE LA REGULACIÓN DE LA MUERTE APOPTÓTICA
Andrea Caballero Benítez y
Julio Morán Andrade 235

EL PAPEL ANTIATEROGÉNICO DE LA PARAOXONASA 1
Oscar Pérez-Méndez y Claudia Huesca Gómez 245

EL HUESO COMO UN ÓRGANO BLANCO DE LA INTOXICACIÓN CON PLOMO. Gloria Emilí Cortina Ramírez
y José Víctor Calderón Salinas 252

LA LEVADURA ACUMULA TREHALOSA PARA PROTEGER PROTEÍNAS Y MEMBRANAS DURANTE EL ESTRÉS
José G. Sampedro 258

OTRAS COMUNICACIONES

PROBLEMA BIOQUÍMICO. PRODUCCIÓN Y TRANSFERENCIA DE ENERGÍA EN EL CORAZÓN
Karla G. Carvajal Aguilera 266

CRUCIBIOQ. SÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS
Yolanda Saldaña Balmori 267

RESPUESTA AL PROBLEMA BIOQUÍMICO
Karla G. Carvajal Aguilera 269

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ
Yolanda Saldaña Balmori 270

INFORME DE LA SEMANA DE LA EDUCACION BIOQUÍMICA 2002
Irene Patricia del Arenal Mena, Alicia Cea Bonilla, Marco Antonio Juárez Oropeza, Héctor Riveros Rosas, Patricia Torres Durán y Edgar Vázquez Contreras 271

LIBROS DE RECIENTE PUBLICACIÓN: TERMODINÁMICA BIOLÓGICA de Rafael Vázquez Duhalt. Comentarista:
Amelia Farrés González 274

CONVOCATORIAS

REGISTRO DE PRECANDIDATOS PARA OCUPAR LA PRESIDENCIA DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A.C. DURANTE EL BIENIO 2003-2005 276

SEMANA DE LA EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 2003
XXX TALLER DE ACTUALIZACIÓN BIOQUÍMICA Y XII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A.C.
(Primer Anuncio) 277

CORRESPONSALES DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 278

ÍNDICE ANUAL DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 2002 279

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 283

REVISORES ASOCIADOS AL COMITÉ EDITORIAL

GUILLERMO ÁLVAREZ LLERA
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

ANA CLORINDA ÁRIAS ÁLVAREZ
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

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

RAÚL MIGUEL COVIÁN GARCÍA
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

JESÚS CHIMAL MONROY
Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

HÉCTOR JAVIER DELGADILLO GUTIÉRREZ
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana

MARCO GONZÁLEZ MARTÍNEZ
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

ZURISADDAI HERNÁNDEZ GALLEGOS
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados
Instituto Politécnico Nacional

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

MARINA MACÍAS SILVA
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

DALILA MARTÍNEZ ROJAS
Centro de Investigación de Estudios Avanzados
Instituto Politécnico Nacional

MA. DE LOURDES MASSIEU TRIGO
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

RAÚL MENA LÓPEZ
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados
Instituto Politécnico Nacional

RICARDO MONDRAGÓN FLORES
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados
Instituto Politécnico Nacional

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

JUAN PABLO PARDO VÁZQUEZ
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

GUADALUPE PRADO FLORES
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana

MARTHA ROBLES FLORES
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

ADELA RODRÍGUEZ ROMERO
Instituto de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

LENA RUIZ AZUARA
Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

EMMA SAAVEDRA LIRA
Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

MANUEL SORIANO GARCÍA
Instituto de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

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

JESÚS B. VELÁZQUEZ FERNÁNDEZ
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados
Instituto Politécnico Nacional

EDITORIAL

UN VISIONARIO, DOS ALUMNOS Y UN GUSANO: EL PREMIO NOBEL 2002 EN MEDICINA

Este año, la Academia Sueca de Ciencias otorgó el Premio Nobel de Medicina o Fisiología a Sydney Brenner, John Sulston y a Robert Horvitz por su trabajo iniciado hace más de 40 años a lo largo del cual se demostró que el estudio genético del desarrollo del nemátodo *Caenorhabditis elegans* representa un poderoso modelo para descifrar muchos de los procesos fundamentales de interacción celular que permiten forjar tejidos y órganos complejos, en particular el proceso de muerte celular por apoptosis.

Este trabajo se inició en el Laboratorio de Biología Molecular del MRC en la Universidad de Cambridge en Inglaterra en la década de los 60s, donde el Dr. Sydney Brenner (ahora miembro del Instituto Salk para Estudios Biológicos) inició este tipo de estudios con este pequeño nemátodo que en su estado adulto mide un poco más de un milímetro con un estado hermafrodita y uno femenino y con un ciclo de reproducción de 3 días y medio. Este organismo es relativamente simple, ya que está formado por un poco más de 1000 células, sin embargo, suficientemente complejo para presentar la mayor parte de los procesos de diferenciación celular que permiten formar un sistema nervioso y diversos procesos de organogénesis compleja. El Dr. Brenner reconoció que esta combinación de características, de ser explotadas adecuadamente por medio de estudios de complementación genética, podría ser de gran utilidad en la identificación del gene o grupos de genes responsables de controlar estos procesos. Brenner propuso que si los principios genéticos y moleculares que rigen la morfogénesis y la organogénesis son generales, el conocimiento que se pudiera desprender de este nemátodo sería aplicable a organismos más complejos, como los vertebrados y por supuesto al humano. Una de las contribuciones seminales del Dr. Brenner fue la demostración de que el tratamiento con mutágenos puntuales como el etilmetanosulfonato (EMS), un agente alquilante que produce mutaciones puntuales por inversión (promueve el cambio de una G por una C) permite la generación de linajes de *Caenorhabditis elegans* con deficiencias genéticas que podían servir como marcadores genéticos y que eventualmente, por medio de experimentos de complementación, permitieron identificar genes responsables de una gran variedad de procesos celulares asociados a la diferenciación y la formación de órganos y tejidos. Además de haber reconocido el potencial del modelo de *Caenorhabditis elegans* el Dr. Brenner identificó una serie de genes clave en el desarrollo del sistema nervioso.

Hacia el final de la década de los 60´s el Dr. John Sulston (hoy miembro del Instituto Sanger, Wellcome Trust en la Universidad de Cambridge en Inglaterra) ingresó al grupo de trabajo del Dr. Brenner. El trabajo del Dr. Sulston analizando el linaje celular que da origen a diferentes neuronas demostró, que todos los individuos de *Caenorhabditis elegans* están formados por el mismo número de células y todas ellas tienen siempre el mismo árbol genealógico o linaje celular. El detallado estudio que realizó el Dr. Sulston de los linajes neuronales le llevó a identificar a un pequeño grupo de células (131 en total), que siempre mueren en la misma etapa del desarrollo del organismo. A este tipo de muerte celular se le denominó muerte celular fisiológica por ocurrir de manera natural simpre en la misma célula y en el mismo punto del desarrollo del organismo. Este proceso de muerte resultó ser análoga a la muerte celular que muchos otros embriólogos y biólogos del desarrollo habían identificado durante la metamorfosis en las mariposas o en las ranas e incluso en vertebrados, tales como la desaparición de los conductos wolfrianos o mülerianos durante la diferenciación sexual. En años recientes el trabajo del Dr. Sulston ha continuado en la dirección del análisis del genoma de *Caenorhabditis elegans* y el del genoma humano.

EL Dr. Robert Horvitz (hoy adscrito al Instituto Tecnológico de Massachussets) también se incorporó al grupo

del Dr. Sydney Brenner a mediados de la década de los 70´s después de haberse graduado en Harvard y colaboró con el Dr. Sulston en la caracterización de los diferentes linajes neuronales, familiarizándose con el sistema. Al establecer su propio grupo de trabajo en el MIT, continuó caracterizando genes relacionados con el control del desarrollo del nemátodo. Estos estudios le llevaron a identificar un gen que al ser eliminado evitaba que las células que habían muerto fueran removidas, lo que permitía visualizar fácilmente a los nemátodos que portaban esta mutación a la que denominó deficiencia de la muerte celular (cell death deficient: ced). Su grupo identificó dos genes que al ser mutados generaban un fenotipo similar, a los que denominaron ced-1 y ced-2. Este hallazgo permitió la identificación de más de 10 genes que participan en diferentes etapas de la muerte celular fisiológica o muerte celular programada como le denominó el Dr. Horvitz. Entre los genes más relevantes identificados por el grupo de Horvitz destacan ced-3 y ced-9. El gen ced-3, que en *Caenorhabditis elegans* resultó ser el primer gen que se enciende en le proceso de muerte celular programada, es homólogo a una gran familia de proteasas ácidas que cortan después de un residuo de ácido aspártico y que presentan en su sitio activo un residuo de serina. A este grupo de proteasas se les ha denominado caspasas y han sido reconocidas como un importante brazo ejecutor de la muerte celular programada y de la muerte por apoptosis, un concepto acuñado por Kerr, Willies y Curie a principios de la década de los 70´s. El gen ced-9 resultó ser el primero de una familia de proteínas que interfieren con el programa genético de muerte celular, cuyo representante más importante en vertebrados es Bcl-2, identificado originalmente por el Dr. Korsmeyer.

Así, el reconocimiento de que la muerte celular contribuye al control de la formación y organización de los tejidos y órganos de los organismos pluricelulares la coloca a la par con los fenómenos de proliferación y diferenciación celular. Por ende, la comprensión de cómo se controla este proceso en *Caenorhabditis elegans* permitió extrapolar este conocimiento al hombre y comprender que la senescencia y algunos procesos patológicos como las enfermedades neurodegenerativas, el SIDA y el desarrollo de tumores están en parte asociados a la disfunción de los genes que controlan la muerte celular fisiológica. En conclusión, el premio Nobel en Medicina o Fisiología fue otorgado a estos tres investigadores porque su trabajo, realizado en este pequeño nemátodo, ha permitido comprender con mucha más claridad algunas de las enfermedades de mayor importancia epidemiológica en el humano y abrió la puerta para el desarrollo de nuevas aproximaciones terapéuticas, antes inimaginables.

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

METABOLISMO ANAEROBIO EN EUCARIOTES INFERIORES II. MITOCONDRIAS ANAEROBIAS*

IRENE PATRICIA DEL ARENAL MENA[1], ALBERTO GUEVARA FLORES[1], ALICIA CEA BONILLA[1] Y JOSÉ EDGARDO ESCAMILLA MARVÁN[2]

RESUMEN

La producción de ATP y el mantenimiento del equilibrio redox en presencia de oxígeno son dos procesos asociados a la mitocondria. En algunos protozoarios y en helmintos, estos dos procesos se realizan por una ruta metabólica llamada dismutación del malato, que es una vía fermentativa conectada a una cadena de transporte de electrones. Porque estas reacciones ocurren en ausencia de oxígeno, a las mitocondrias en donde se llevan a cabo se les denomina mitocondrias anaerobias. Esta vía tiene como principal producto al succinato, que es la molécula a través de la cual se elimina el exceso de equivalentes reductores.

PALABRAS CLAVE: Dismutación del malato, fumarato reductasa, rodoquinona, helmintos, tripanosomátidos.

ABSTRACT

When oxygen is present, the ATP production and the redox equilibrium maintenance are two processes associated to mitochondria. In some protozoa as well as in helminths, these two functions are accomplished by malate dismutation, a fermentative pathway linked to an electron transport. Mitochondria using this pathway are called "anaerobic mitochondria". The main product of malate dismutation is succinate, the molecule by which electrons are eliminated.

KEY WORDS: Malate dismutation, fumarate reductase, rhodoquinone, helminth, trypanosomatides.

INTRODUCCIÓN

Muchos procariotes y algunos eucariotes pueden funcionar en ausencia de O_2, o adaptar su metabolismo energético a diferentes concentraciones de este gas.

Para funcionar sin O_2 como el aceptor terminal de electrones, las coenzimas reducidas tienen que reoxidarse por otros procesos, para que el organismo pueda mantener su balance redox en ausencia de una respiración aeróbica. En organismos procarietes el nitrato, el sulfato y el fumarato, entre otros, pueden sustituir al oxígeno y funcionar como aceptores terminales de electrones (1).

En los organismos eucariotes que habitan ambientes carentes de O_2, la acumulación de cofactores reducidos se evita por medio de la fermentación simple, en donde la glucosa se oxida a etanol o lactato. En el caso de algunos protozoarios, de helmintos parásitos adultos y de ciertos organismos marinos inferiores, como los ostiones y los mejillones, existe, además de la fermentación simple, una fermentación ligada a una cadena de electrones, llamada dismutación del malato (2). Esta vía se encuentra asociada a la membrana plasmática en organismos procariotes y a la membrana interna de la mitocondria en organismos eucariotes que viven en medios en donde la tensión de O_2 es baja. Por lo tanto, lejos de considerar únicamente a las mitocondrias como el organelo típicamente aeróbico, la presencia de la dismutación del malato en donde no participa el oxígeno, permite denominar a estas mitocondrias como anaerobias.

Morfológicamente, en las mitocondrias anaerobias se observa una membrana mitocondrial interna muy reducida, un ciclo de Krebs no funcional, una excreción de ácidos orgánicos reducidos y una baja actividad de los complejos respiratorios III y IV (3). Por ejemplo, en *Ascaris suum* no se

*Recibido: 14 de enero de 2002 Aceptado: 9 de julio de 2002

[1]Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM. Apartado Postal 70-159. C.P. 04510, México D.F. Tel. 5623-2169 Fax 5616-2419. Correo E: darenal@bq.unam.mx [2]Instituto de Fisiología Celular, UNAM . Tel.5622-5627

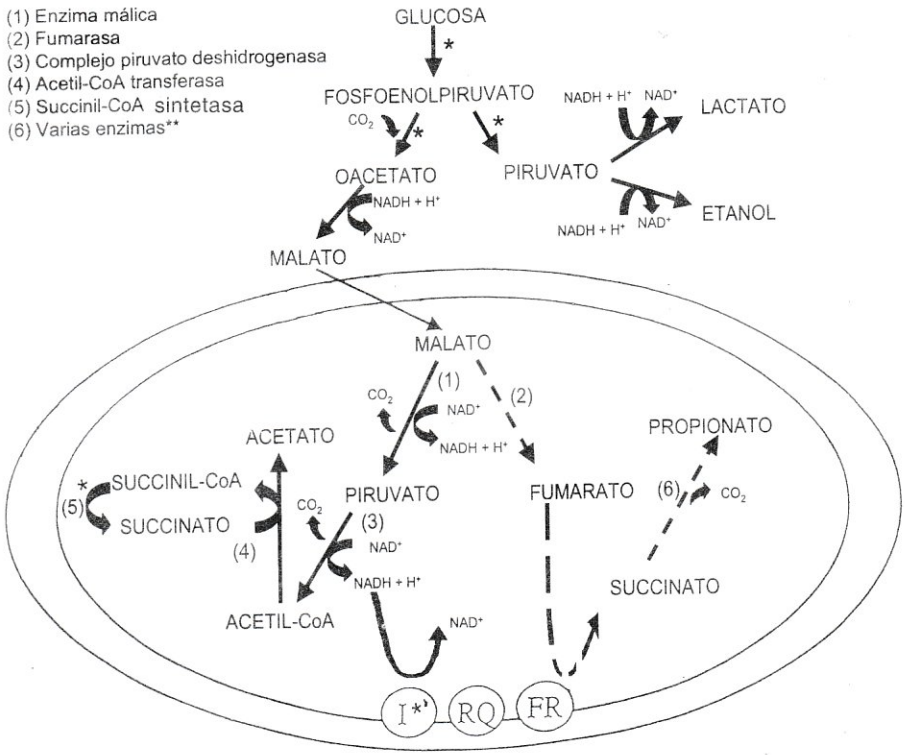


Figura 1. Dismutación del malato. *El fosfoenolpiruvato que se produce en la glucólisis genera malato citosólico, que entra a la mitocondria, en donde puede seguir dos caminos: uno oxidativo (—) que produce piruvato y NADH y otro reductivo que da lugar a succinato. El NADH que se produce, es el sustrato donador de electrones de la vía reductora (----). En los sitios indicados con * se produce ATP a nivel de sustrato; en *' se produce ATP por fosforilación oxidativa ; I=, indica la participación del complejo I de la cadena respiratoria, ** varias enzimas: succinil-CoA sintetasa, metilmalonil-CoA mutasa, metilmalonil-CoA epimerasa, metilmalonil-CoA piruvato transcarboxilasa y succinil-CoA transfersa, RQ = rodoquinona, FR = fumarato reductasa.*

logró detectar la actividad de la citocromo oxidasa aa_3 (4).

DISMUTACIÓN DEL MALATO

Cuando una molécula sigue dos caminos metabólicos, uno oxidativo y otro reductivo, se dice que se dismuta. A través de la dismutación del malato, algunos organismos pueden sobrevivir en anaerobiosis. Esta vía utiliza al fumarato como aceptor terminal de los electrones, generando succinato y manteniendo así el balance redox. Si el oxígeno es la molécula a través de la cual los organismos aeróbicos eliminan electrones, en condiciones anaerobias, el succinato cumple esta función.

Los organismos que se han adaptado para funcionar en anoxia, utilizando la dismutación del malato, degradan a los carbohidratos por la vía glucolítica hasta fosfoenolpiruvato. A partir de este último compuesto, se sigue una vía alterna a la de la glucólisis, en la que el fosfoenolpiruvato se carboxila formando oxaloacetato que, a su vez, se reduce a malato por una malato deshidrogenasa citosólica (Fig. 1). El malato citosólico ingresa a la mitocondria y se dismuta: en la vía oxidativa, el malato se descarboxila oxidativamente generando NADH y piruvato, el que, a su vez, da origen a acetato; en el camino reductivo, el malato, siguiendo el sentido contrario del ciclo de Krebs, se deshidrata y forma fumarato, que se reduce a succinato, y que, al igual que el acetato, es excretado al medio. Por cada malato oxidado hasta acetato, se generan dos moléculas de NADH, que a su vez reducen a dos moléculas de fumarato. La dismutación del malato puede generar, además de acetato, otros productos finales como propionato. En estas reacciones en eucariotes anaerobios, se obtiene ATP adicional al que se produce durante la glucólisis (Fig. 1).

El NADH que se produce durante la oxidación del malato dona sus electrones al fumarato a través del sistema NADH-fumarato reductasa, llamado así porque está formado por el complejo I de la cadena de transporte de electrones, una quinona y la fumarato reductasa (Fig. 1) (3). En *Escherichia coli*, existen dos NADH deshidrogenasas: NADH-1 y NADH-2. La NADH-1 (con 13 subunidades) es el análogo funcional del complejo I de los organismos superiores (que tiene alrededor de 42 subunidades) y participa en la reducción del fumarato (5). Aunque en eucariotes anaerobios se ha descrito que es el complejo I el que forma parte de esta vía (3), queda abierta la posibilidad de que una NADH deshidrogenasa diferente sea la que participe en este proceso.

La fumarato reductasa (FR) cataliza la reacción en el sentido contrario al que funciona la succinato deshidrogenasa (SDH), y aunque ambas enzimas pueden catalizar la oxidación del succinato o la reducción del fumarato *in vitro*, lo hacen con diferente eficiencia. Por ejemplo SDH, medida como Q_1-reductasa, oxida a succinato con una kcat de 87 s^{-1} y reduce fumarato con una kcat de 1.5 s^{-1}. En tanto que la fumarato reductasa produce succinato con una kcat 12.6 veces mayor a la de la oxidación (6).

De hecho, la FR es una enzima diferente que sustituye a la succinato

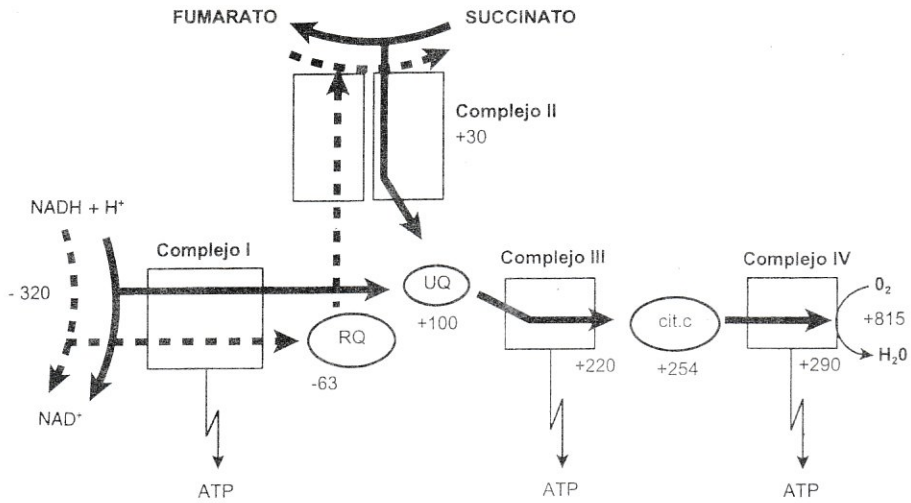


Figura 2. *Comparación entre la vía aerobia (——) y la anaerobia (----) asociadas a la cadena de transporte de electrones. Los números indican el potencial redox (mV) de los componentes.*

deshidrogenasa (Fig. 2). La presencia de dos enzimas diferentes, en ocasiones, se ha considerado como un artificio, debido a que la SDH podría estar trabajando en los dos sentidos. Sin embargo, Christmas y Turrens (7), demostraron la existencia de dos enzimas diferentes al tratar a la fracción de membranas totales de epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* con KCl 300 mM. Este tratamiento produjo la liberación diferencial de la FR, quedando en la membrana sólo la actividad de SDH, libre de la actividad de fumarato reductasa. Adicionalmente, estos resultados demostraron que ambas enzimas están presentes simultáneamente en dicho protozoario. Lo anterior contrasta con lo que sucede en *E. coli*, en donde las dos enzimas se expresan en condiciones diferentes, y mientras que la FR está únicamente presente en células cultivadas en anaerobiosis, la SDH sólo se expresa en cultivos aerobios (1).

En *Ascaris*, otros dos productos importantes resultantes del metabolismo de los carbohidratos son, además del propionato, el 2-metilbutirato (MB) y el 2-metilvalerato (MV), que se forman por la condensación de la acetil-CoA con la propionil-CoA o por la condensación de dos moléculas de propionil-CoA, respectivamente. Estas son también reacciones reductivas, en donde se reoxida el NADH. MV y MB se encuentran como ésteres en los huevos de *Ascaris,* en donde se almacenan y se usan como sustratos respiratorios durante esta fase de su ciclo de vida (2).

LA FUMARATO REDUCTASA

La fumarato reductasa es una enzima muy estudiada en las bacterias (8) y en algunos helmintos como *Ascaris suum* (9); en mamíferos no se ha reportado su presencia. Salvo en el caso de las bacterias del género *Shewanella* y de levaduras como *Saccharomyces cereviciae*, en las que se le ha descrito como una enzima soluble, en las demás especies es una proteína membranal. En eucariotes inferiores se encuentra localizada en la membrana interna mitocondrial y es una enzima evolutivamente relacionada con la SDH.

Tanto la FR como la SDH están compuestas por cuatro subunidades diferentes en igual relación molar: La subunidad A (Fp) tiene un peso molecular aproximado de 70 kDa y FAD unido covalentemente; la subunidad B (Ip) es de alrededor de 30 kDa y tiene tres centros Fe-S. Las subunidades A y B constituyen la parte catalítica de la enzima; son proteínas periféricas y están unidas a la membrana interna mitocondrial a través de dos subunidades hidrofóbicas denominadas C o cybL y D o cybS, de 15 y 13 kDa, respectivamente; estas últimas tienen unidos hemos de tipo *b*, como grupos prostéticos.

Las subunidades A (Fp) y B (Ip) de la SDH están conservadas en diferentes especies y relacionadas con las mismas subunidades de la FR (10). Inclusive, en *Haemonchus contortus,* un nemátodo parásito del borrego, se han reportado dos genes para la subunidad Ip, uno perteneciente a la FR y otro a la SDH, los que se expresan en diferentes etapas de su desarrollo (11).

ADAPTACIONES A LA REDUCCIÓN DEL FUMARATO

En condiciones aeróbicas, la SDH se encarga de oxidar al succinato y reducir a la ubiquinona; ésta, a su vez, dona sus electrones al complejo III de la cadena de transporte de electrones y de aquí, al complejo IV, que es el encargado de reducir al oxígeno. Cuando en anaerobiosis está presente la FR, se ha visto que los complejos III y IV están parcial o totalmente inactivos. Esto se corrobora por la insensibilidad parcial o total del consumo de oxígeno a inhibidores como la antimicina, el CN^- y la azida (12).

La interconversión del fumarato y del succinato es posible gracias a que tanto la SDH como la FR actúan de manera reversible; sin embargo, en las condiciones de la célula, interactúan con quinonas diferentes y, mientras que la SDH utiliza a la ubiquinona, la FR usa a la rodoquinona en eucariotes inferiores (Fig. 2).

UBIQUINONA *VS* RODOQUINONA

Como se mencionó, los organismos que reducen fumarato usan quinonas que difieren de las ubiquinonas no sólo en

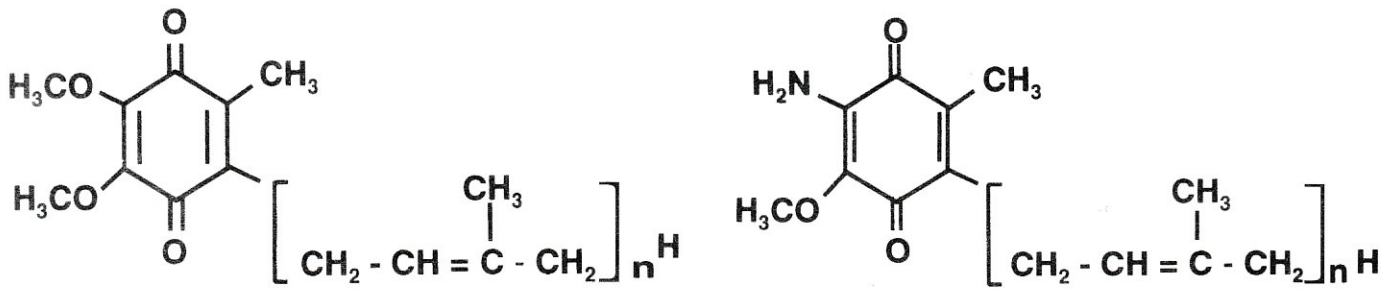


Figura 3. *Estructura de la ubiquinona (superior) y la rodoquinona. El $E^{o'}$ de –65 mV de la rodoquinona le permite actuar como donador de electrones en la reducción del fumarato con la participación de la fumarato reductasa. Ese mismo potencial hace difícil que pueda recibirlos del succinato en una reacción catalizada por la succinato deshidrogenasa; n representa el número de unidades isopreno en la cadena lateral de las quinonas.*

su estructura, sino también en que su potencial redox es más bajo (Fig. 3).

La rodoquinona en eucariotes anaerobios es el componente encargado de reducir al fumarato. Tiene un potencial redox negativo de –63 mV, similar al de la menaquinona (E^0 = -80 mV), que realiza esta misma función en la mayoría de los procariotes que tienen FR. La ubiquinona, que recibe los electrones de la succinato deshidrogenasa, tiene un potencial de +100 mV, muy superior al del par succinato/fumarato, de +30 mV. Por lo tanto, Q_{10}, en condiciones fisiológicas, recibe fácilmente electrones del succinato por medio del complejo II, pero no puede actuar como donador en la reacción inversa; sólo la rodoquinona, con un potencial menor, tiene capacidad de hacerlo y, por lo tanto, actúa como donador de electrones en la reacción de reducción del fumarato, catalizada por la fumarato reductasa (Fig. 2).

Los datos anteriores sugieren que los cambios a un metabolismo energético anaerobio requirieron de la aparición de quinonas con potenciales redox más bajos.

La rodoquinona está presente en casi todos los organismos eucariotes que reducen fumarato; sin embargo, en el caso de los tripanosomátidos, se ha descrito una fumarato reductasa membranal que no se encuentra asociada a quinonas (7); se sugiere que ésta podría funcionar de forma similar a la NADH-fumarato reductasa descrita en *Saccharomyces cerevisiae*, en donde además de soluble, tampoco se asocia a quinonas.

En bacterias, la rodoquinona y la menaquinona se han encontrado asociadas a la FR (13). Es interesante mencionar que *Bacillus subtilis*, tiene una succinato menaquinona reductasa y, a pesar del bajo potencial de la menaquinona, se sugiere que su reducción por la SDH requiere del gradiente protón motriz (14).

ALTERNANCIA DEL METABOLISMO

En helmintos parásitos se ha estudiado con más detalle la presencia de estos dos complejos, en diferentes estadios del ciclo de vida. Este es el caso de *Ascaris suum*, un nemátodo parásito del cerdo. Se sabe que es necesario el oxígeno para que en los huevos fertilizados se desarrolle el embrión y se llegue al segundo estado larval, llamado L2. Sólo cuando el hospedero ingiere los huevos infectivos que contienen a las larvas L2, éstas se desarrollan hasta llegar al estado adulto y están en posibilidades de habitar en el intestino del cerdo, en donde la tensión de O_2 es muy baja (0-30 mm Hg).

Durante la transformación de la larva L2 en el adulto, hay una transición del metabolismo aerobio hacia uno anaerobio. Los citocromos *b* y *c* disminuyen en las mitocondrias del estado adulto de *Ascaris suum*, comparativamente con las del estado L2 (Tabla I); la citocromo *c* oxidasa aa_3 no se detecta, lo que indica que los adultos no tienen una cadena respiratoria aerobia funcional.

Estos datos concuerdan con el contenido de quinonas. La larva L2 tiene ubiquinona (73.3 %) y rodoquinona (26.7 %), mientras que en el adulto sólo esta presente la rodoquinona. La relación SDH/FR es también diferente en las dos etapas, como se observa en la Tabla 1. Estos datos indican la presencia de un metabolismo aerobio en la etapa larvaria y otro anaerobio en el estado adulto (3).

En algunos organismos marinos facultativos (ostiones, mejillones) se ha demostrado la presencia de dos tipos de quinonas: La Q_{10}, que transfiere electrones en condiciones aeróbicas cuando la marea sube y los organismos son bañados por el agua, y la rodoquinona, que funciona cuando la marea baja y el organismo bivalvo se cierra y realiza un metabolismo anaerobio. Estas variaciones ocurren con una periodicidad muy corta (seis horas aproximadamente), por lo que la expresión

TABLA I

CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPONENTES RESPIRATORIOS EN MITOCONDRIAS DE LARVAS (L2) Y DE ORGANISMOS ADULTOS DE ASCARIS SUUM (DATOS TOMADOS DE LA REFERENCIA 9).

COMPONENTE	L2 (O_2^-)	ADULTO (O_2^-)
	(nmoles / mg de proteína)	
Cit *b*	0.440	0.190
Cit cc_1	0.370	0.036
Cit aa_3	0.150	ND
UQ_9	0.330	ND
RQ_9	0.120	1.900
	Actividad específica (μmol min^{-1} mg^{-1})	
Succ-UQ **	0.065	0.136
FR**	0.074	2.720
SDH/FR	0.870	0.050

**La actividad específica de SDH fue medida como Succ-Q_1 reductasa y la de FR fue medida a 550 nm por la oxidación de metil-viologeno. ND = No detectada.

de los dos complejos es casi simultánea (13).

En helmintos se han encontrado diferentes poblaciones de mitocondrias en un mismo organismo. Esto se debe a que carecen de un sistema circulatorio y de proteínas acarreadoras de O_2. La libre difusión del oxígeno causa la formación de un gradiente de este gas en los tejidos, lo que origina que las mitocondrias aerobias se localicen en sus tejidos externos y las anaerobias en los internos (4). Sólo en muy pocos casos se han logrado aislar mitocondrias de diferentes tejidos y cuantificar sus componentes respiratorios (9). En la mayoría de los organismos se han estudiado las mitocondrias totales, lo que da una gran dispersión en los datos reportados con base en el porcentaje de mitocondrias aerobias o anaerobias en la preparación.

Es interesante mencionar que en los tripanosomátidos, el metabolismo energético tiene dependencia limitada de oxígeno y excretan moléculas orgánicas reducidas (acetato y piruvato principalmente) como producto final de su metabolismo (14). Por ejemplo, en las mitocondrias del promastigote de *Phytomonas* (un parásito de plantas) no se encuentra un ciclo de Krebs funcional y sólo están presentes la vía para producir acetato a partir de piruvato y una oxidasa alterna, típica de los tripanosomátidos (TAO), que recibe electrones únicamente de la glicerol 3-fosfato deshidrogenasa. Una situación similar ocurre en la forma sanguínea de *Trypanosoma brucei* (slender), que presenta una mitocondria pequeña, con crestas escasas (15), que carece de las enzimas del ciclo de Krebs y de los citocromos, características que comparte con las mitocondrias anaerobias, aunque tiene a la oxidasa alterna.

PERSPECTIVAS Y CONCLUSIONES

El estudio del metabolismo energético de eucariotes inferiores nos ha permitido establecer la presencia de mitocondrias que funcionan en ausencia de oxígeno. Es necesario entender a la mitocondria como un organelo con diversidad funcional, en el que el metabolismo ha evolucionado para adaptarse a concentraciones diferentes de oxígeno y a las diversas necesidades que estos organismos tienen durante su ciclo de vida. La dismutación del malato es la vía anaerobia más estudiada en los eucariotes inferiores y de la que se tiene, por lo tanto, información más completa.

Otro aspecto interesante es la caracterización de enzimas o procesos metabólicos exclusivos de parásitos, que abre la posibilidad del desarrollo de fármacos dirigidos contra éste, sin afectar al hospedero. Este podría ser el caso de la fumarato reductasa que, aunque está ampliamente representada en bacterias y organismos inferiores, no se ha descrito en organismos superiores.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo recibió apoyo de la UNAM a través de la DGAPA (proyecto número IN-212600). Alberto Guevara recibió una beca dentro de este mismo convenio.

REFERENCIAS

1. Spiro S y Guest J R (1991) Adaptative responses to oxygen limitation in *Escherichia coli*. TIBS *16*:310-314.

2. Tielens A G M (1994) Energy generation in parasitic helminths. Parasitol Today *10*:346-352.

3. Takamiya S y col (1993) Developmental changes in the respiratory chain of *Ascaris* mitochondria. Biochim Biophys Acta *1141*:65-74.

4. Komuniecki P R, Johnson J, Kamhawi M y Komuniecki R (1993) Mitochondrial heterogeneity in the parasitic nematode *Ascaris suum*. Exp Parasitol *76*:424-437.

5. Unden G y Bongaerts J (1997) Alternative respiratory pathways of *Escherichia coli*: energetics and transcriptional regulation in response to electron acceptors. Biochim Biophys Acta *1320*:217-234.

6. Pardo J P, Martínez F, Guerra G y Velázquez I (2001) El complejo II: La succinato deshidrogenasa de la cadena respiratoria. BEB *20*:103-107.

7. Christmas P B y Turrens J F (2000) Separation of NADH-fumarate reductase and succinate dehydrogenase activities in *Trypanosoma cruzi*. FEMS Microbiol Letters *183*:225-228.

8. Kröger A, Geisler V, Lemma E, Theis F y Lenger R (1992) Bacterial fumarate respiration. Arch Microbiol *158*:311-314.

9. Kita K, Takamiya S, Furushima R, Ma Y, Suzuki H, Ozawa T y Oya H (1988) Electron-transfer complexes of Ascaris suum muscle mitochondria III. Composition and fumarate reductase activity of Complex II.Biochim Biophys Acta *935*:130-140.

10. Amino H y col. (2000) Stage-specific isoformes of *Ascaris suum* complex II: the fumarate reductase of the parasitic adult and the succinate dehydrogenase of free-living larvae share a common iron-sulfur subunit. Mol Biochem Parasitol *106*:63-76.

11. Roos M H y Tielens A G M (1994) Differential expression of two succinate dehydrogenase subunit-B genes and a transition in energy metabolism during the development of the parasitic nematode *Haemonchus contortus*. Mol Biochem Parasitol *66*:273-281.

12. Fioravanti C F y Reising J M (1990) Mitochondrial hydrogen peroxide formation and fumarate reductase of *Hymenolepis diminuta*. J Parasitol *76*:457-463.

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

14. Schirawski J y Unden G (1998) Menaquinone-dependent succinate dehydrogenase of bacteria catalyzes reversed electron transport driven by the proton potential. Eur J Biochem *257*:210-215.

15. Tielens A G M y Van Hellemond J J (1998) Differences in energy metabolism between trypanosomatidae. Parasitol Today *14*:265-271.

MECANISMOS MOLECULARES DE LA REGULACIÓN DE LA MUERTE APOPTÓTICA*

Andrea Caballero Benítez y Julio Morán Andrade

RESUMEN

La muerte apoptótica es un evento natural que tiene lugar durante el desarrollo embrionario y es parte de un proceso de eliminación de células en organismos maduros, presentándose también en diversas patologías como en el caso de enfermedades neurode-generativas. Las células apoptóticas presentan una serie de cambios morfológicos y bioquímicos que resultan de una serie de eventos controlados genéticamente. En el nemátodo *Caenorhabditis elegans* se han identificado más de 10 genes que regulan la muerte apoptótica observada durante el desarrollo de este organismo. Para 3 de estos genes se han identificado homólogos en mamíferos: los genes proapoptóticos ced-3 y ced-4 y el gen antiapoptótico ced-9. En mamíferos, los homólogos de ced-3 y ced-9 son proteasas miembros de la familia de las caspasas y Bcl-2, respectivamente, mientras que ced-4 corresponde a la proteína proapoptótica Apaf-1 que recluta caspasas al complejo de muerte. Las caspasas son componentes clave del proceso apoptótico y forman parte de una cascada proteolítica responsable de la degradación de proteínas celulares específicas. También existen moléculas que inhiben la muerte apoptótica por mecanismos distintos a los que sigue ced-3 y Bcl-2, como las proteínas inhibidoras de apoptosis (IAPs), caracterizadas primero en baculovirus de insectos, habiéndose ya identificado sus homólogos en mamíferos. Se sabe que estas proteínas interactúan con las caspasas inhibiendo su activación a diferentes niveles. La caracterización de proteínas como las IAPs, así como el estudio de sus mecanismos de acción han permitido conocer los elementos reguladores de la apoptosis, lo que abre la posibilidad de nuevas estrategias terapéuticas para algunas patologías.

PALABRAS CLAVE: caspasas, proteínas inhibidoras de apoptosis, muerte celular programada, moléculas reguladoras.

ABSTRACT

Apoptosis is a normal event in the embryonic development as well as part of the elimination of cells in mature organisms, present also during several pathologies like neurodegenerative and autoimmune diseases were this process becomes activated. Cells undergoing apoptosis show characteristic morphological and biochemical changes resulting from the activation of a set of genes. In the nematode *Caenorhabditis elegans* programmed cell death is controlled by more than 10 different genes, among them ced-3, ced-4 and ced-9 have a critical role in cell death during development of this organism. Their homologous protein products in mammals are proteases belonging to the family of caspases, the adaptor protein Apaf-1 and the protooncogene Bcl-2 family, respectively. Caspases are key elements in apoptotic death, being responsible for the processing and degradation of cell proteins. Other elements in this process are regulators of cell death like the inhibitors of apoptosis proteins (IAPs), initially characterized in insect baculovirus and for whom mammalian homologous have been identified. IAPs seem to inhibit caspases by interacting directly or indirectly through adaptor proteins, which are required for the recruitment of caspases and their activation. The identification and characterization of IAPs, as well as the understanding of their mechanisms of action could open new therapies for different pathologies.

KEY WORDS: apoptosis, signaling pathways, regulators molecules.

INTRODUCCION

La muerte celular programada o apoptosis es un proceso biológico muy conservado a lo largo de la escala evolutiva, el cual se asocia a la eliminación de células para el mantenimiento de la homeostasis del organismo bajo distintas condiciones fisiológicas, como el desarrollo embrionario. La apoptosis también juega un papel crítico en el origen y la evolución de ciertas patologías como enfermedades autoinmunes y algunos procesos neurodegenerativos. La apoptosis se caracteriza por una serie de cambios

*Recibido: 28 de enero de 2002 Aceptado: 9 de julio de 2002

Departamento de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular. UNAM. Apartado. Postal 70-253, C.P. 04510, México D.F. Tel: 56 22 -56 16. Fax. 5622-56 07. Correo E: abenitez@ifisiol.unam.mx

morfológicos y bioquímicos tales como la fragmentación internucleosomal del ADN, condensación de la cromatina, encogimiento celular y la formación de cuerpos apoptóticos y la aparición de fosfatidilserina en la lámina externa de la membrana celular, entre otros. En los últimos años se han identificado una gran cantidad de moléculas que participan en este fenómeno y que regulan este proceso a diferentes niveles.

La muerte apoptótica es un proceso complejo que requiere de la activación de varias señales y mecanismos de regulación, los cuales involucran la participación de una serie de moléculas con acción proapoptótica como en el caso de los miembros de la familia de las caspasas, así como antiapoptóticas como algunos de los miembros de la familia del Bcl-2 y las proteínas inhibidoras de apoptosis (IAPs). La caracterización de los genes ced-3, ced-4 y ced-9 en el nemátodo *Caenorhabditis elegans* ha permitido entender el proceso de muerte celular programada con mayor detalle. Los productos protéicos de ced-3 y ced-4 inducen muerte celular, en tanto que el producto protéico de ced-9, la inhibe. El homólogo en mamíferos de ced-4 es Apaf-1, una molécula que funciona como proteína adaptadora, mientras que los miembros de la familia del Bcl-2 son los homólogos de ced-9 (1). El primer homólogo identificado de ced-3 fué ICE, una proteasa de cisteína involucrada en el procesamiento de la prointerleucina 1b (2). Recientemente se han identificado diferentes proteasas que median muchos de los eventos bioquímicos que ocurren en la muerte apoptótica. Estas proteasas se conocen actualmente como caspasas y se sabe que su activación ocurre de manera secuencial y específica.

Una gran variedad de eventos generados durante el proceso apoptótico se producen en la mitocondria, incluyendo alteraciones en el transporte de electrones, la fosforilación oxidativa y la producción de ATP, así como la liberación de moléculas proapoptóticas y su interacción con otras proteínas como algunos miembros de la familia del Bcl-2.

Muchos eventos relacionados con la regulación del proceso apoptótico ligados a la mitocondria parecen estar mediados por las proteínas antiapoptóticas Bcl-2 y su homólogo Bcl-x_L (Bcl-x large). Por ejemplo, la muerte apoptótica inducida por isquemia o hipoxia se inhibe tanto por Bcl-2 como por Bcl-x_L. En mitocondrias aisladas, estas proteínas aumentan la liberación de protones de la mitocondria y aumentan la capacidad de amortiguar el Ca^{2+} mitocondrial (3). Se piensa que estas proteínas antiapoptóticas podrían modificar el pH del espacio intermembranal, provocando así un aumento en la velocidad de extrusión de protones de la mitocondria.

Algunos estudios recientes han demostrado que la activación de algunas caspasas depende de la liberación del citocromo c de la mitocondria al citosol (4). Se ha propuesto que el citocromo c liberado forma, junto con Apaf-1 y la procaspasa-9, un complejo multiproteico que se denomina apoptosoma y que es responsable del procesamiento de la procaspasa-9 a su forma activa, la cual puede activar a su vez a otras caspasas. Las consecuencias de la liberación del citocromo c podrían depender del tipo celular. En este caso, además de la activación de caspasas, el citocromo c remanente en la mitocondria podría acoplarse al sitio de unión de alta afinidad del citocromo b-c y a la citocromo c oxidasa para mantener el transporte de electrones. Bajo estas condiciones, el consumo de oxígeno y la producción de ATP derivadas de la fosforilación oxidativa podrían mantenerse sin abatirse, mientras que las caspasas activadas podrían atacar proteolíticamente sustratos citosólicos y nucleares llevando a la célula a la muerte apoptótica. Por otro lado, en aquellas células con niveles altos de inhibidores endógenos de caspasas, la liberación del citocromo c podría asociarse a otras alteraciones como una disfunción en la cadena transportadora de electrones e incrementos en los niveles de Ca^{2+} libre y de radicales libres, lo que podría llevar a la célula a una muerte necrótica. Recientemente se ha considerado al citocromo c como un marcador de muerte apoptótica (5)

El factor inductor de apoptosis (AIF), otra proteína que también es liberada de la mitocondria, se transloca al núcleo como resultado de un estímulo apoptótico. Aunque los mecanismos de acción del AIF aún son controversiales, este factor induce condensación de cromatina y fragmentación de ADN en núcleos aislados y es capaz de inducir liberación de citocromo c y la activación de procaspasa-9. En algunos estudios se ha visto que su acción es bloqueada por inhibidores generales de caspasas, sugiriendo la posibilidad de que el AIF sea otra caspasa capaz de procesar procaspasas; sin embargo, otros estudios han demostrado que ninguno de los efectos del AIF se ven afectados por inhibidores de caspasas, lo que apoya la idea de que el AIF sea un efector mitocodrial de muerte apoptótica independiente de caspasas. La secuencia de aminoácidos de AIF posee una estrecha homología con oxidorreductasas de organismos vertebrados y bacterias, sugiriendo un papel como oxidorreductasa mitocondrial y efector de muerte independiente de caspasas.

La mitocondria es también una fuente importante de producción de aniones superóxido. Durante la transferencia de electrones, se estima que de 1 a 5% de los electrones de la cadena respiratoria participan en la for-

mación de especies reactivas de oxígeno (ROS). El contenido de superóxidos y la peroxidación de lípidos se incrementa durante la apoptosis; aún no es claro si la generación de ROS es una señal de inicio o una consecuencia del proceso apoptótico. El colapso del potencial de la membrana interna de la mitocondria se considera un evento importante dentro del modelo general de apoptosis. Este proceso lleva a la apertura de un canal de alta conductancia conocido como el poro de transición mitocondrial (PTM). La apertura de este canal disiparía el gradiente de protones a través de la membrana interna, lo que desacoplaría la cadena respiratoria y favorecería la liberación del citocromoc del espacio intermembranal de la mitocondria hacia el citoplasma. Sin embargo, algunos estudios indican que la liberación del citocromo c y la activación de las caspasas ocurre antes de que se detecte la pérdida del potencial de membrana mitocondrial, esto implica que el PTM podría aparecer en eventos posteriores a la activación de las caspasas mediada por el apoptosoma.

Familia de ICE/Ced-3 (Caspasas)

Las caspasas son proteasas de cisteína con una preferencia absoluta de residuos de aspartato en las posiciones P1 para el procesamiento proteolítico del sustrato. Hasta el momento se han descrito 14 caspasas, las cuales, a excepción de la caspasa-9, comparten una secuencia homóloga con ced-3 incluyendo el sitio catalítico con el pentapéptido QACRG (Fig. 1A). Estas proteasas se sintetizan como zimógenos precursores con muy poca actividad catalítica, están constituidas por un prodomino en la región N-terminal y 2 regiones que al fraccionarse generan dos subunidades catalíticas. En el zimógeno el prodominio es altamente variable en longitud y secuencia y está involucrado en la regulación de la activación de la proenzima. Las subunidades producidas se asocian con los fragmentos de otra caspasa para formar un tetrámero cuyos sitios catalíticos funcionan de manera independiente (Fig. 1B). Estas proteasas se activan cuando sufren un procesamiento proteolítico en residuos de Asp que puede estar mediado por otras proteasas o incluso puede ser autocatalizado, inducido bien por moléculas que funcionan como activadoras del procesamiento del zimógeno a enzima activa, o bien, por la remoción de moléculas inhibidoras.

La familia de las caspasas se ha dividido en 3 subfamilias: la subfamilia de la caspasa-1 dentro de la cual se encuentran la caspasa-1 (ICE), caspasa-4 (ICErel-III, TX, ICH-2), caspasa-5 (ICErel-II, TY), caspasa-11 (Ich-3), caspasa-12, caspasa-14 (MICE); la subfamilia de la caspasa-2 representada por la propia caspasa-2 (Ich.1); y la subfamilia de la caspasa-3 que incluye a la caspasa-8 (FLICE, MACH, Mch5), caspasa-9 (ICE/LAP6, Mch6), caspasa-10 (FLICE2, Mch4) caspasa-3 (Yama, CPP32, apopaína), caspasa-7 (ICE/LAP3, Mch3, CMH-1), caspasa-6 (Mch2). Existe una clasificación alterna que se basa en el tamaño del prodominio. Las caspasas con grandes prodominios, como las caspasas-2, -8 y –9, funcionan como iniciadores de señales que se encuentran al principio de cascadas proteolíticas, mientras que las que presentan un prodominio pequeño, como las caspasas-3, -6 y –7, se localizan debajo de las caspasas iniciadoras y funcionan como proteasas efectoras que rompen principalmente sustratos proteicos en núcleo y citoesqueleto (6).

Muchas proteínas del citoesqueleto son sustratos potenciales de varias caspasas. Un sustrato importante de la caspasa-3 es la gelsolina, una proteína reguladora que lleva a cabo múltiples funciones en citoesqueleto. Se ha demostrado el rompimiento de esta proteína durante la apoptosis in vivo, así como su rompimiento por acción de la caspasa-3 *in vitro*. La lámina A, una proteína constitutiva de los filamentos internos del núcleo celular es un substrato potencial de la caspasa-6, la cual puede ser procesada y activada por múltiples estímulos. La a-espectrina no eritroide, también llamada a-fodrina, se rompe por caspasa-3 durante la muerte apoptótica de células granulares de cerebelo. Se ha demostrado en modelos *in vitro* que uno de los sustratos mejor caracterizados de las caspasas es la proteína nuclear PARP (poli-(ADP) ribosa polimerasa), una enzima involucrada en la reparación del ADN (7). Algunos estudios indican que la caspasa-3 interactúa con varias proteínas citoplásmicas para generar la fragmentación del ADN nuclear. El factor de fragmentación del ADN (DFF), es una molécula citosólica mediadora de este proceso (4). Este factor está constituido por 2 subunidades de 40 y 45 kDa, esta última puede ser proteolíticamente procesada por la caspasa-3. Una vez que la subunidad de 45 kDa se ha procesado y es activada, se requiere para el rompimiento de substratos nucleares tales como PARP y lámina B; sin embargo, no es necesaria para la fragmentación del ADN nuclear, la cual puede estar mediada principalmente por nucleasas dependientes de Ca^{2+}/Mg^{2+}.

La activación de las caspasas iniciadoras como las caspasas-8 y –9, requiere de la participación de moléculas acopladoras específicas, un mecanismo comúnmente observado en las proteasas en general; esta unión está mediada por al menos dos estructuras «motivo» distintas que residen tanto en el prodominio de las caspasas como en la molécula reguladora correspondiente (Fig. 2A y 2B). Por ejemplo, la activación de la caspasa-8 requiere de su asociación con la proteína adaptadora FADD (Fas-

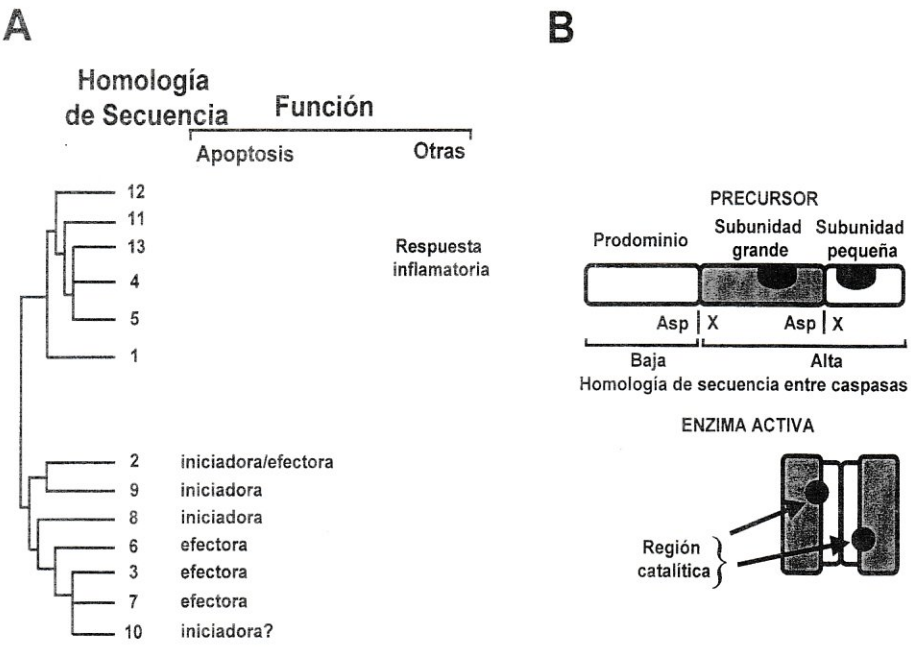


Figura 1. *Función y estructura de los miembros de la familia de las caspasas. A. Las caspasas han sido identificadas desde organismos tales como el nemátodo* Caenorhabditis elegans *hasta el hombre. Aquí se muestran 13 de las 14 caspasas caracterizadas hasta el momento, las cuales tienen un papel importante tanto en la muerte apoptótica como en la respuesta inflamatoria. B. Las caspasas activas se componen de una subunidad grande (~20 kDa) y una pequeña (~10 kDa), cada una de las cuales contribuye estructuralmente a la formación del sitio activo. Al igual que otras proteasas, las caspasas se sintetizan como precursores o zimógenos que sufren un procesamiento proteolítico para activarse. El dominio N-terminal que es altamente variable en longitud (de 23 a 216 aminoácidos) y secuencia, está involucrado en regular la actividad de la enzima (modificado de16)*

Associated Protein with Death Domain) a través de un dominio de interacción proteica denominado DED (Death Effector Domain), en tanto que la activación de la caspasa-9 involucra la formación de un complejo con Apaf-1 a través de otro dominio de interacción proteica, CARD (Caspase Recruitment Domain) (Fig. 2B). La caspasa-9 parece requerir de múltiples factores para activarse que incluyen a Apaf-1 y al citocromo c. Hay evidencias que indican la existencia de vías apoptóticas que dependen de ambas caspasas, in vivo e in vitro. El gen de la caspasa-9, también genera dos isoformas por procesamiento alternativo del transcrito primario.

Se ha propuesto que los zimógenos de las caspasas están latentes en las células en forma de monómeros y en complejos que impiden su autocatálisis, y que las moléculas reguladoras permiten que dos o más caspasas precursoras estén próximas unas a otras, permitiendo así su activación autocatalítica. El efecto de estas proteínas reguladoras puede ser directo o indirecto, removiendo alguna molécula inhibidora. En el caso de la activación de las caspasas efectoras, existen evidencias experimentales que apoyan el modelo de una cascada proteolítica mediada por la activación de los zimógenos (Fig. 2) inducida por otras caspasas. Una señal proteolítica lleva a la activación de una caspasa iniciadora que a su vez procesa y activa a las caspasas efectoras, de ahí que diferentes señales apoptóticas induzcan los mismos cambios bioquímicos y morfológicos.

Familia de Ced-9/Bcl-2.

En mamíferos, el proto-oncogen bcl-2 es funcional y estructuralmente homólogo a Ced-9 de C. elegans. Bcl-2 fue inicialmente identificado como un gen asociado al desarrollo de leucemias granulocíticas de células B, de donde deriva su nombre (B-cell leukemia gene 2). Existen dos clases funcionalmente diferentes de proteínas relacionadas con Bcl-2: las proteínas antiapoptóticas como Bcl-2, Bcl-x_L, Bcl-w, NR-13, A1, Boo y Mcl-1y los moléculas proapoptóticas que incluye a Bax, Bak, Bcl-x2, Bad, Bid, Hrk, Bim y Bok/Mtd (Fig. 3) (8). En la estructura de estas proteínas se han identificado 4 dominios o motivos muy conservados que se conocen como regiones de homología con Bcl-2, denominados "Bcl-2 homology regions", BH1, BH2, BH3 y BH4. Estas secuencias son responsables en gran parte de la homo y hetero dimeri-zación, característica común entre los miembros de la familia. La proteína Bcl-2 está asociada a estructuras membranales del núcleo, retículo endoplásmico y membrana externa mitocondrial, al igual que el resto de los miembros de la familia, aunque recientemente se ha encontrado que una porción de Bax puede encontrarse en la fracción soluble celular. Algunos estudios indican que Bax se redistribuye del citosol a mitocondria después de la inducción de la apoptosis y que esta proteína sufre un cambio conformacional adoptando una estructura en α-hélice anfipática que se une con gran afinidad a Bcl-x_L, a través de interacciones hidrofóbicas y electrostáticas. La región BH3 en algunos de los miembros proapoptóticos de la familia, tales como Bax y Bik, promueve la interacción de estas proteínas con Bcl-x_L neutralizando la función antiapoptótica de Bcl-x_L y favoreciendo la muerte apoptótica .

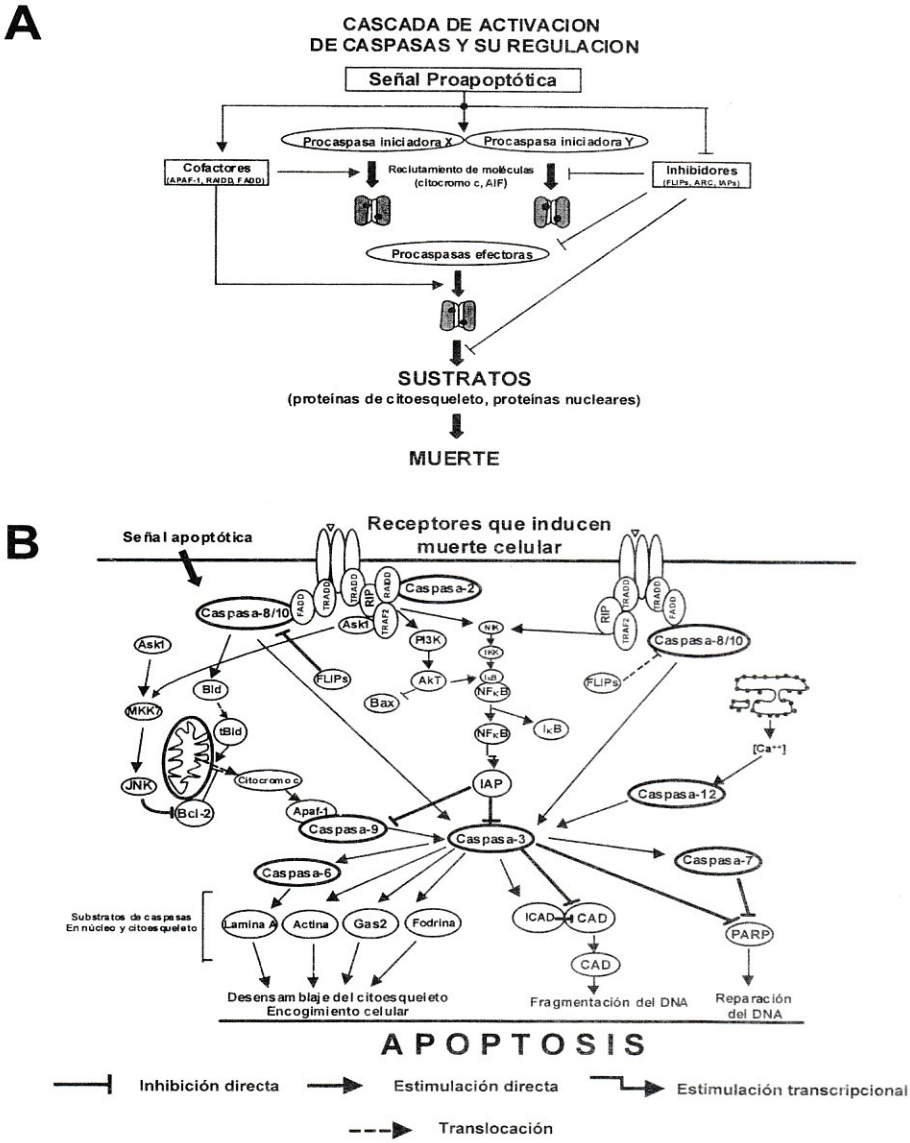


Figura 2. *Cascada de activación de caspasas y su posible regulación en células apoptóticas. A. En la apoptosis, las caspasas son las responsables directas del procesamiento proteolítico de proteínas nucleares y de citoesqueleto, que lleva al desensamblaje celular. Ellas son también responsables de regular los eventos iniciales de la muerte apoptótica. Diferentes señales proapoptóticas inducen la activación de caspasas iniciadoras, las cuales a su vez inducen la activación de las caspasas efectoras, responsables de la fragmentación proteolítica de una gran cantidad de proteínas, generando así los cambios morfológicos característicos de la muerte apoptótica.*
B. Las caspasas pueden ser reguladas por moléculas inhibidoras o inductoras que modifican su activación. El modelo propuesto sugiere que una señal proapoptótica induce la activación de vías de señalización en las que participan diferentes moléculas, entre ellas las caspasas, proteínas adaptadoras y «cofactores» como el citocromo c mitocondrial liberado al citosol. Algunas proteínas inhibidoras pueden sufrir modificaciones estructurales que las llevan a inactivarse. Todos estos procesos regulan la activación de caspasas. RAIDD (Recruitment apoptotic inductor with death domain), FADD (Fas-associated protein with death domain), FLIPs (FADD-like ICE inhibitory proteins), ARC (apoptosis represor with caspase recruitment domain), TRADD (TNF-receptor associated death domain), RIP (receptor interacting protein), TRAF2 (TNFR-associated factor-2), MKK7 (MAP/Erk kinase kinase-1), tBid (truncated BId), PI3K (phosphatidylinositol-3-kinase) (modificado de referencia 16)

Bcl-2/ Bcl-x_L

Diversos estudios *in vitro* indican que el producto proteico del gen bcl-2 inhibe la muerte de células neuronales inducida por deprivación de suero, glucosa y factores de crecimiento. Varias proteínas antiapoptóticas que pertenecen a esta familia inhiben la muerte inducida por la activación de los receptores de muerte de la familia del factor de necrosis tumoral (TNF) e inhiben la activación y autoprocesamiento de la caspasa-8. Bcl-2 se expresa ampliamente durante el desarrollo embrionario (principalmente en cerebro e hígado) disminuyendo sensiblemente en el estado adulto y vuelve a aumentar en células senescentes.

En las proteínas antiapoptóticas como Bcl-2 y Bcl-x_L los dominios BH1 y BH2 participan en el proceso antiapoptótico y en la heterodimerización de éstas con otras que promueven la muerte tales como Bax, en tanto que el dominio BH3 de los miembros proapoptóticos es esencial para su activación y heterodimerización. Se ha determinado que los dominios BH1, BH2 y BH3 influyen fuertemente la homo y la heterodimerización, sin embargo, no se requieren para la función de las proteínas antiapoptóticas, mientras que para aquellas que promueven la muerte son esenciales.

El mecanismo por el que Bcl-2 regula la apoptosis aún no es claro, sin embargo su localización en la membrana externa de la mitocondria podría estar relacionada con la función mitocondrial implicada en la apoptosis. Se ha propuesto también que Bcl-2 es un poderoso antioxidante y que tiene la capacidad de interferir con las vías de señalización mediadas por Ca^{2+}. Algunos estudios sugieren que las proteínas antiapoptóticas podrían funcionar inhibiendo directamente la habilidad de las moléculas parecidas a Ced-4 para inducir la activación de las caspasas (Fig. 2). Recientemente se

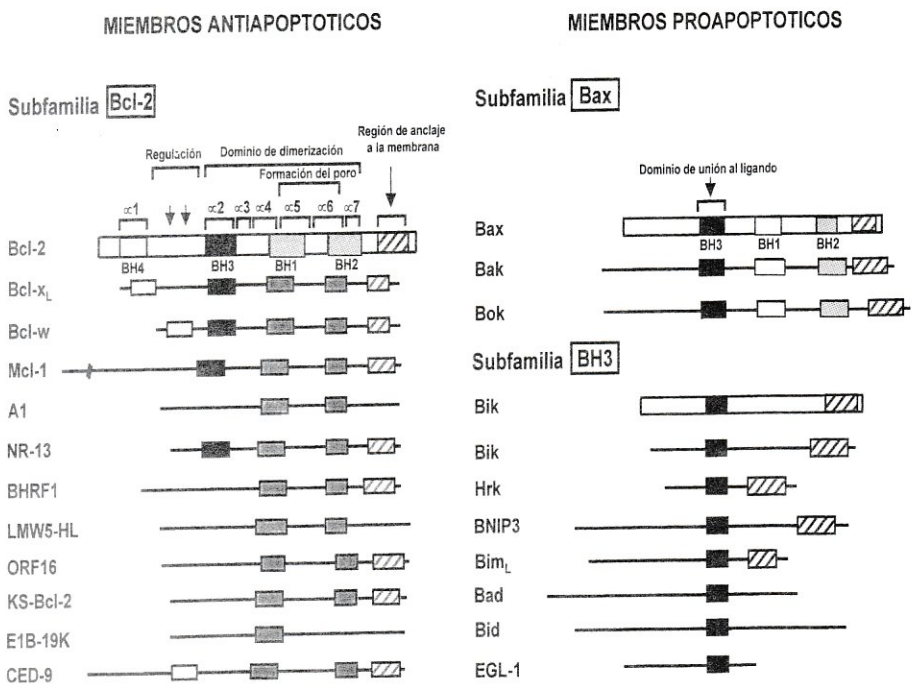


Figura 3. *Miembros de la familia de CED-9/Bcl-2. Dentro de esta familia se encuentran elementos reguladores negativos del proceso de muerte o antiapoptóticos como Bcl-2 y Bcl-x , así como miembros proapoptóticos como Bax y Bik, entre otros. De acuerdo a las diferencias estructurales que existen entre las diferentes proteínas se han clasificado en 3 subfamilias. El esquema muestra los dominios críticos asociados a algunas de las acciones pro y antiapoptóticas de estas proteínas (modificado de 17)*

ha reportado que Bcl-x_L puede unirse también a Apaf-1 e inhibir su asociación con la procaspasa-9.

Bcl-x_L presenta una distribución intracelular similar a Bcl-2, su estructura recuerda a los dominios de inserción a membranas de toxinas bacterianas; esto podría apoyar la hipótesis de que los miembros de la familia que contienen los dominios BH1 y BH2 inducen la formación de poros en organelos tales como mitocondrias, sin embargo, Bcl-x_L, Bcl-2 ni Bax forman canales en bicapas lipídicas *in vitro*, y aquellos creados por Bax y Bcl-2 tienen diferentes características que incluyen una gran selectividad iónica (9).

BAX

La inducción de la expresión de la proteína proapoptótica Bax activa un programa de muerte apoptótica que incluye disfunciones mitocondriales como alteraciones del potencial de membrana y producción de ROS sin liberación de citocromo c, así como la activación de las caspasas-3 y –9. Sin embargo, si bien no hay duda de que in vitro Bax puede formar heterodímeros, aún no se ha podido determinar con exactitud si Bax se une a Bcl-2 dentro de la célula y en respuesta a algún estímulo fisiológico, ya que los diferentes detergentes utilizados para la lisis celular facilitan esta asociación.

La sobreexpresión de Bax antagoniza el efecto protector del Bcl-2. En células susceptibles a la muerte apoptótica, la porción de Bax que se localiza en el citosol normalmente se encuentra como monómero inactivo. Bax se transloca a la mitocondria en respuesta a una señal de muerte, posteriormente sufre un cambio conformacional y se homodimeriza insertándose en la membrana interna de la mitocondria. Aún en presencia de inhibidores de las caspasas, la sobreexpresión de Bax y las proteínas proapoptóticas relacionadas a ésta pueden inducir apoptosis. Se ha propuesto que Bax podría mediar la muerte independientemente de las caspasas a través de la formación de canales que podrían inducir alteraciones en la permeabilidad de la membrana mitocondrial (9), sin embargo, la relevancia fisiológica de este fenómeno aún es incierta. Se ha propuesto también que la actividad proapoptótica de Bax puede neutralizarse por fosforilación mediada por la cinasa AKT/PKB. Esta cinasa se activa en respuesta a una gran variedad de estímulos hormonales, lo que representa un mecanismo adicional de modulación de la actividad proapoptótica de Bax.

IAPs ("Inhibitor apoptosis proteins")

En algunos de los casos, la apoptosis representa una estrategia para eliminar a aquellas células que han sido infectadas viralmente. Una respuesta adaptativa ante esta situación es la creación de mecanismos virales para inhibir este proceso de muerte (10). Las caspasas parecen ser un blanco de proteínas virales que se activan en respuesta a estímulos de muerte inducidos por las células infectadas, entre las que se encuentran, p35, crmA y las proteínas inhibidoras de apoptosis (IAPs), tres diferentes clases de proteínas antiapoptóticas baculovirales. Aunque los genes de las IAPs fueron originalmente descubiertos en el genoma de virus de insectos se han encontrado ya sus homólogos celulares en el genoma de aves y mamíferos incluyendo al hombre (11). Recientemente se ha descusbierto que algunas de las IAPs en humanos son potentes inhibidores de caspasas y de la muerte apoptótica inducida por diversos estímulos.

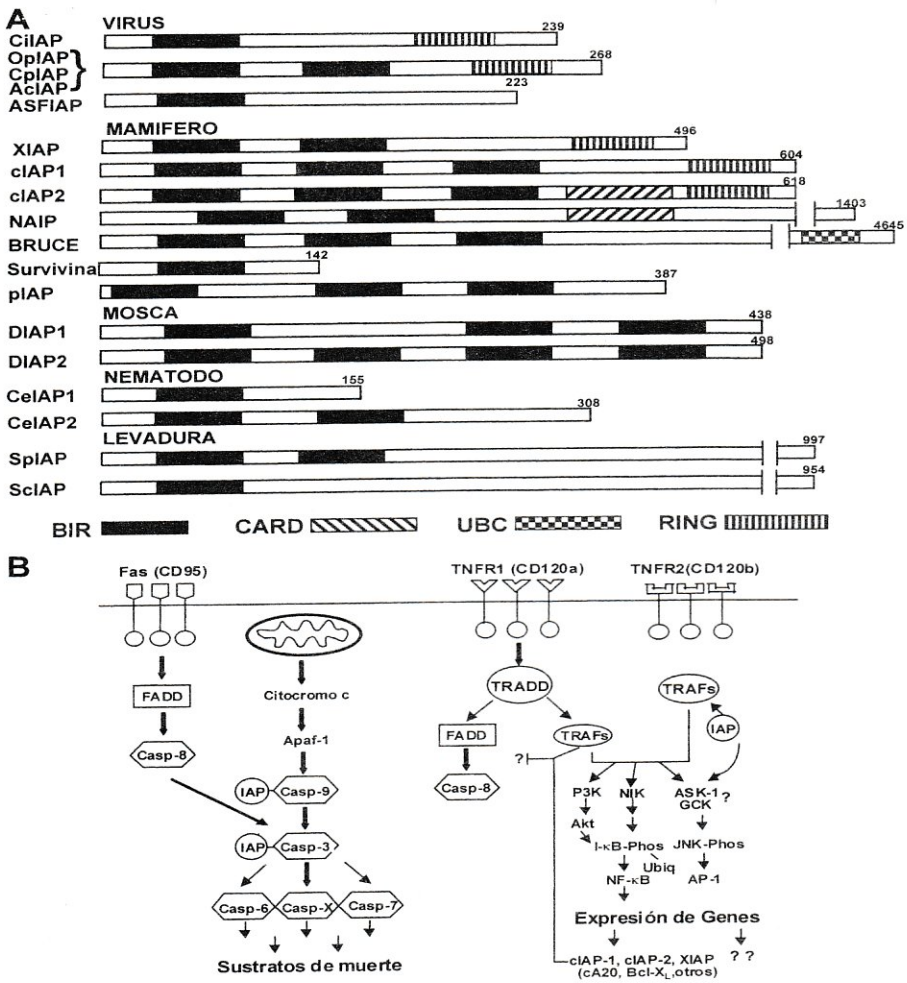


Figura 4. *Miembros de la familia de las proteínas inhibidoras de apoptosis (IAPs). A. Todas las IAPs comparten una gran similitud en su estructura, principalmente en los dominios BIR. Aquí, está representada la estructuras y los dominios estructurales más importantes de las IAPs de varias especies: BIR (baculoviral IAP repeat); CARD (caspase adaptor recruiting domain); UBC (ubiquitin-conjugation domain in BRUCE); RING. No se ha demostrado totalmente el efecto inhibidor de la apoptosis de algunas de estas proteínas como Ac-IAP, BRUCE, cIAP de porcino y las IAPs de nemátodo y levadura. B. Posibles puntos de interacción de las IAPs con las vías de muerte celular. Se pueden observar las vías apoptóticas activadas por Fas (CD95), la mitocondria o el TNFR1 (CD120a). Algunos estudios indican que las IAPs de humano, pueden bloquear directamente a las caspasas-3, -7 y -9. Se sabe también que estas proteínas pueden estar involucradas en las vías de transducción de señales activadas por las proteínas adaptadoras TRAFs, a través de la activación de los receptores de muerte TNFR1 y TNFR2, así como en las vías de transducción que involucran la activación del NF-kB (modificado de la referencia 14)*

Aunque las IAPs y p35 no poseen una homología de secuencia obvia, estas proteínas son funcionalmente similares. Se sabe que las IAPs, al igual que p35, ejercen sus efectos uniéndose e inhibiendo a las caspasas, como es el caso de la XIAP (12).

Hasta el momento se han identificado 6 proteínas de la familia de las IAPs en humanos: NAIP cIAP1/HIAP2/Hmihb, cIAP2/HIAP1/hMIIHC, XIAP/hILP, survivina y BRUCE (13) (Fig. 4A). Estas proteínas contienen en su estructura 2 motivos: un domino N-terminal que contiene hasta 3 repeticiones imperfectas de ~70 aminoácidos, ricas en residuos de cisteína e histidina denominadas unidad de repetición tipo IAP identificada en baculovirus ("baculovirus IAP repeat" (BIR)) y un "RING finger" en la región c-terminal de unión a zinc que se encuentra en varias proteínas nucleares y citosólicas involucradas en funciones como la transcripción y reparación de ADN, proliferación y diferenciación celular. El motivo BIR es exclusivo de las IAPS y ha sido identificado en proteínas de *Schizosaccharomyces pombe* y *Saccharomyces cerevisiae*, en el nemátodo *Caenorhabditis elegans*, en *Drosophila melanogaster* y en algunas especies de mamíferos (14). Es importante hacer notar que el dominio "RING finger" de las IAPs se localiza en la región C-terminal, mientras que en el resto de las proteínas que lo presentan se encuentra en la región N-terminal.

En las IAPs de mamífero y las proteínas relacionadas a éstas, los dominios BIR y RING están separados por una región anfipática de 120 a 170 residuos cuyo papel aún no se ha definido. Esta región no se encuentra en las IAPs codificadas por el baculovirus (Fig. 4A). La proteína inhibidora de apoptosis neuronal (NAIP) posee una homología limitada con el resto de las IAPs, sin embargo, su actividad antiapoptótica en la atrofia muscular espinal (SMA) parece ser importante. Las cIAP1 y cIAP2 de mamíferos se han identificado como componentes del complejo de señalización de receptores del factor de necrosis tumoral (TNFR), a través de su unión al heterocomplejo TRAF1-TRAF2 (TRAF es una proteína adaptadora que forma parte del complejo de activación inducido por la unión de los receptores a TNFa su ligando). La activación del receptor de TNF a tipo 2 (TNFR2/p75) por su ligando, el TNF, induce el reclutamiento del complejo TRAF1-cIAP al dominio citoplásmico

del receptor; las IAPs no se unen directamente a TNFR2, la unión se da a través de TRAF2. El heterómero TRAF2-cIAP2 también se ha identificado en el complejo de señalización del receptor de TNF tipo 1 (TNFR1/p55). A diferencia de éstas la XIAP, otro miembro de la familia de las IAPs, no interactúa con ninguna de las 6 proteínas TRAFs, esto sugiere que su función podría ser diferente a la del resto de los miembros de la familia (12).

Se sabe que la activación de ambos receptores, induce muerte apoptótica. El receptor TNFR2 transduce señales a través de la interacción de su dominio citosólico con la proteína TRAF2 (TNFR-associated factors 1 y 2, que también forman parte de una familia de proteínas adaptadoras) y su interacción con TRAF1 depende de la formación de un heterocomplejo con TRAF2. cIAP1 y cIAP2, son dos componentes recientemente identificados del complejo de señalización TNFR2. cIAP1 y cIAP2 interactúan con los dominios N-terminales de TNFR de TRAF1 y TRAF2 a través de los dominios BIR (Fig. 4B). Esto indica que el dominio BIR, podría constituir un dominio de interacción proteína-proteína. Estudios recientes indican que las IAPs pueden reducir la muerte apoptótica o inhibirla parcialmente cuando es inducida por la sobreexpresión de FADD, una proteína adaptadora asociada al dominio de muerte citosólico del receptor CD95 (Fas/APO-1/Fas/CD95), miembro de la superfamilia de TNFR.

La habilidad de las IAPs para regular la muerte apoptótica en muchas especies radica en su capacidad de unirse e inhibir directamente a algunas caspasas; algunos de los miembros de esta familia contienen un dominio de reclutamiento de caspasas (CARD), localizado entre los dominios BIR y RING finger. Este dominio se ha identificado en c-IAP1 y c-IAP2; el significado funcional de este dominio en la actividad antiapoptótica de las IAPs aún no es claro. En humanos XIAP, cIAP1 y cIAP2 son inhibidores directos de las caspasas-3 y -7, ya que previenen el procesamiento catalítico de éstas e inhiben también a la caspasa-3, inducida por la activación de receptores de la familia de TNF-R y por la liberación de citocromo c al citoplasma (15) (Fig. 4B). Las IAPs no pueden bloquear el procesamiento catalítico de caspasa-3 inducido por caspasa-8, pero sí inhiben directamente a la caspasa-3 activa. Se ha demostrado que las IAPs bloquean también la activación de la caspasa-9 inducida por el citocromo c, previniendo así la activación de la caspasa-3 y -7. Estos resultados sugieren que la caspasa-8 y el citocromo c, activan a la procaspasa-3 a través de vías independientes y que ambas pueden ser bloqueadas por las IAPs a diferentes niveles y que sólo las formas activas de caspasa-3 y -7 pueden asociarse a las IAPs cuando el estímulo se induce por la liberación de citocromo c. Se sabe también que estas proteínas se pegan a la procaspasa-9 *in vivo* previniendo su activación, bloqueando así el procesamiento de procaspasa-3 y la apoptosis. La XIAP no sólo inhibe caspasa-8 sino también a las caspasa-2 y -1. El dominio BIR de estas proteínas parece ser suficiente para proteger de muerte apoptótica (12, 15). Un sólo dominio BIR de XIAP es suficiente para bloquear el procesamiento de la procaspasa-9 inducido por el citocromo c, en tanto que el dominio RING no tiene efecto. Otros dominios identificados en la estructura de estas proteínas incluyen al dominio UBC (ubiquitin-conjugating-domain), encontrado en el dominio BRUCE. Aún no se sabe si esta proteína puede inhibir la apoptosis, sin embargo podría ser una conexión funcional entre las proteínas involucradas en el proceso de muerte apoptótica y la ubiquitina, presente en el proteosoma para la degradación de proteínas.

Existen 3 genes proapoptóticos que sólo se han identificado en *Drosophila melanogaster*, denominados reaper (rpr), grim y hid, de los cuales aún no se ha encontrado su homólogo en mamíferos, sin embargo reaper y grim pueden inducir apoptosis en células de humano, la cual puede inhibirse por las cIAPs. Los productos proteícos (Reaper y Grim) se unen a la región de las IAPs en donde se encuentra el dominio BIR. A través de esta interacción, las IAPs pueden regular a Reaper y Grim, alterando su distribución celular y bloqueando su acceso a las caspasas que se encuentren debajo de la cascada apoptótica inhibiendo así la muerte celular. Estos experimentos sugieren que la maquinaria de muerte celular activada por Reaper y por Grim está funcionalmente conservada entre insectos y mamíferos. Recientemente se ha identificado que Doom, una proteína en *Drosophila*, interactúa con la región C-terminal de las IAPs. Su sobreexpresión induce muerte apoptótica, la cual puede ser bloqueada por las IAPs de baculovirus.

Otras proteínas que juegan un papel importante durante el proceso de muerte son las que pertenecen a la familia de Rel/NF-kB, factores de transcripción que regulan la expresión de varios genes e intervienen en procesos como la proliferación, la diferenciación celular y el desarrollo. Las proteínas Rel/NFkB están estructuralmente relacionadas a través de una región conservada N-terminal denominada «Rel homology

domain» (RHD), que contiene una secuencia importante para la dimerización y unión al ADN. Las funciones de estas proteínas están también moduladas por su interacción con las proteínas inhibidoras de la familia IkB. IkBa, el miembro de esta familia mejor caracterizado, interactúa con homo y heterodímeros formados por proteínas de la familia Rel/NFkB reteniendo el complejo en el citoplasma y cubriendo una señal de localización nuclear. Una vez que la célula recibe un estímulo, las moléculas de IkB son rápidamente fosforiladas y degradadas por el proteosoma, permitiendo que el dímero Rel/NF-kB se transloque al núcleo y regule así la transcripción a través de la unión a secuencias específicas denominadas sitios kB localizadas en la región promotora de genes específicos que inducen un aumento en la frecuencia de transcripción (elementos "enhancer" o reguladores de la transcripción). Aunque la muerte celular inducida por el TNF está mediada principalmente por el receptor TNFR1, éste y el TNFR2 pueden transducir señales intracelulares que estimulan la degradación de IkB. Las IAPs juegan un papel importante en la activación de los miembros de la familia Rel/NFkB. La deleción del dominio RING de cIAP2 genera un inhibidor dominante negativo del NF-kB que aumenta así los efectos citolíticos del TNF. Esto sugiere la importancia funcional de la interacción entre cIAP2 y el NF-kB que facilita una respuesta celular protectora.

Recientemente se ha propuesto que otro posible sitio de acción de las IAPs para inhibir la apoptosis es la interacción directa de éstas con algún elemento de las vías de señalización de la proteína cinasa c-Jun N-terminal (JNK) que promueve muerte apoptótica en algunos modelos celulares. Se sugiere que la sobreexpresión de cIAP2 induce la activación del NF-kB por un mecanismo que involucra la inactivación de IkB. Se sabe también que el NF-kB puede suprimir la activación de las caspasas y que puede afectar negativamente a otras proteínas antiapoptóticas.

La survivina, otro miembro de esta familia de proteínas inhibidoras de apoptosis, se expresa en proporciones muy altas en células cancerosas de humanos. A diferencia de otras IAPs, esto parece indicar que la expresión de la survivina define un evento común asociado a la patogénesis de una gran variedad de cánceres humanos. En condiciones normales, hay bajos niveles de expresión de survivina en tejido adulto. El promotor del gen de esta proteína contiene 4 copias de elementos represores de la fase G1, que están implicados en controlar la periodicidad del ciclo celular de algunos genes que regulan las fases G2/M. Se le ha encontrado asociada a microtúbulos del huso mitótico de células en mitosis, una reacción regulada por la actividad dinámica de los microtúbulos. La pérdida de interacción de survivina con los microtubulos durante la mitosis induce la pérdida de su función antiapoptótica y un aumento en la actividad de la caspasa-3. Estas evidencias indican que esta familia de proteínas está evolutivamente conservada y que tiene diferentes mecanismos de acción para ejercer sus efectos antiapopóticos. Aún no se ha determinado con exactitud el significado fisiológico de estas proteínas en células de mamífero; sin embargo, su amplia distribución en los diferentes tipos celulares y su capacidad para interactuar directamente con parte de las moléculas clave del proceso apoptótico e inhibir el proceso de muerte en diferentes puntos de la cascada de activación, las convierte en componentes importantes de la maquinaria celular que le permiten a ésta responder a los diferentes estímulos externos a los que está expuesta.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Las moléculas que participan en la muerte por apoptosis constituyen elementos clave de un proceso altamente conservado y elemental para el mantenimiento de la homeostasis celular, así como para la adecuada formación de tejidos durante el desarrollo embrionario de los mamíferos. Sabemos ahora que la muerte apoptótica está regulada de manera muy sofisticada en los distintos niveles presentes en la cascada de señales en este proceso. Parecería ser que existen distintas vías apoptóticas que dependen del tipo celular y del agente inductor, y que la mayor parte de estas vías convergen en la activación de las caspasas. Estas caspasas, sin embargo, pueden ser reguladas a su vez por inhibidores endógenos selectivos o sobrepasadas por factores que inician la degradación ordenada del ADN. Así, la relación entre los distintos elementos moleculares presentes en un momento dado de la vida de la célula definirá cuándo y cómo morirá ésta. Esto convierte a la muerte apoptótica, junto con los procesos de diferenciación y proliferación celular, en uno de los eventos más complejos que las células tienen que salvaguardar para el mantenimiento de sus funciones vitales. Esto, junto con la gran diversidad de patologías que involucran a la muerte apoptótica, ha abierto la posibilidad de estrategias terapéuticas en el tratamiento de algunas enfermedades asociadas al envejecimiento, neurodegeneración, inmunodeficiencia, autoinmunidad y muchas formas de cáncer.

REFERENCIAS

1. Reed J (1994) Bcl-2 and the regulation of programmed cell death. J Cell Biol *124*:1-6.

2. Thornberry N, Bull, H, Calaycay J, Chapman R, Howard A., Kostura M, Miller D, Molineaux S, Weidner J y Aunins J (1992) A novel heterodimeric cysteine protease is required for interleukin -1 beta processing in monocytes. Nature *356*:768-774.

3. Shimizu S, Eguchi W, Kamiike Y Funahashi A., Mignon V Lacronique H, Matsuda y Y Tsujimoto (1998) Bcl-2 prevents apoptotic mitochondrial dysfunction by regulating proton flux. Proc Natl Acad Sci USA *95*:1455-1459.

4. Lui X, Zou H, Slaughter C y Wang X (1997) DFF, a heterodimeric protein that functions downstream of caspase-3 to trigger DNA fragmentation during apoptosis. Cell *89*:175-184.

5. Renz A, Berdel WE, Kreuter M, Belka C, Schulze-Osthoff K y Los K (2001) Rapid extracellular release of cytochome c is specific for apoptosis and marks cell death in vivo. Blood *98*:1542-1548.

6. Grossmann J, Walther K, Astinger M, Kiessling S y Schölmerich J (2001) Apoptotic signaling during initiation of detachment-induced apoptosis ("anoikis") of primary human intestinal epithelial cells. Cell Growth Differ *12*:147-155.

7. Nicholson WD, Ali A, Thornberry NA, Vaillancourt JP, Ding CK, Gallart M, Gareau Y, Griffin PR, Labelle M, Lazebnik TA, Munday NA, Rajau SM, Smulson ME, Yamin T-T, Yu VL y Miller DK (1995) Identification and inhibition of ICE/CED-3 proteases necessary for mammalian apoptosis. Nature *376*:37-43.

8. Song Q, Kuang Y, Dixit VM y Vincenz C (1999) Boo, a novel negative regulator of cell death, interacts with Apaf-1. EMBO J *18*:167-78.

9. Green RD y Reed CJ (1998) Mitochondria and apoptosis. Science, *281*:1309-1311.

10. Salvensen GS y Dixit VM (1997) Caspases: Intracellular signaling by proteolysis. Cell *91*:131-139.

11. Harvey NL, AJ, Butt y S Kumar (1997) Functional activation of Nedd2/ICH-1 (Caspase-2) is an early process in apoptosis. J Biol Chem *272*:13134-13139.

12. Duckett CS, Li F, Wang Y, Tomaselli JK, Thompson BC y Armstrong R (1998) Human IAP-like protein regulates programmed cell death dowstream of Bcl-XL and cytochrome c. Mol Cell Biol *18*:608-615.

13. Liston P, Roy N, Tamai K, Lefebvre C, Baird S, Cherton-Horvat G, Farahani R, McLean M, Ikeba J-E, MacKenzie A y Korneluk EG (1996) Suppression of apoptosis in mammalian cells by NAIP and a related family of IAP genes. Nature *379*:349-353.

14. Devereaux QL, Leo E, Stennicke HR, Welsh K, Salvesen GS y Reed JC (1999) Cleavage of human inhibitor of apoptosis protein XIAP results in fragments with distinct specificities for caspases. EMBO J *18*:5242-5251.

15. Devereaux QL, Roy N, Stennicke HR, Van Arsdale T, Zhou Q, Srinivasula SM, Alnemri ES, Salvesen GS y Reed JC (1998) IAPs block apoptotic events induced by caspase-8 and cytochrome c by direct inhibition of distinct caspases. EMBO J *17*: 2215-2223.

16. Thornberry NA y Lazebnik Y (1998) Caspases: enemies within. Science *281*:1312-1316.

17. Adams JM y Cory S (1998). The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. Science *281*:1322-1326.

El Papel Antiaterogénico de la Paraoxonasa 1*

Oscar Pérez-Méndez y Claudia Huesca Gómez

RESUMEN

La concentración plasmática del colesterol asociado a las lipoproteínas de alta densidad (HDL) presenta una correlación negativa con el riesgo de aterosclerosis coronaria. Una de las explicaciones más recientes del papel antiaterogénico de las HDL se ha centrado en su capacidad antioxidante, particularmente debido a la paraoxonasa 1 (PON1). Sin ser un elemento estructural, la PON1 se encuentra asociada por interacciones hidrofóbicas a las HDL. La paraoxonasa 1 participa en la prevención de la formación y de la progresión de la placa ateromatosa por su actividad de lipoperóxido-hidrolasa, que interrumpe la cascada oxidativa de los lípidos de las LDL y detiene el proceso inflamatorio que generan las LDL oxidadas. Se han descrito dos polimorfismos de esta enzima, el Q191R y el L54M. Con base en algunos estudios epidemiológicos, los polimorfismos así como la actividad de la enzima en suero medida por diversos substratos, tienen una asociación con la incidencia de enfermedad aterosclerosa coronaria. A pesar de la falta de consistencia de estos hallazgos en todos los estudios epidemiológicos, existen más evidencias a favor de que la PON 1 desempeña un papel protector contra la aterosclerosis.

PALABRAS CLAVE: Paraoxonasa, lipoperoxidación, lipoproteínas, HDL, aterosclerosis

ABSTRACT

Low plasma levels of high-density lipoproteins (HDL) correlate with a high risk of atherosclerotic heart disease. Recent studies have attributed the antiatherogenic role of HDL to their capacity to avoid atheromas formation and progression. Such capacity is due to the lipoperoxide-hydrolase of the paraoxonase 1 (PON1), enzyme physically associated by hydrophobic interactions with HDL. This enzyme decreases the oxidative modification of low-density lipoprotein (LDL) thereby preventing the inflammatory process promoted by oxidized LDL. Two main polymorphisms of the paraoxonase have been described, the Q191R and the L54M. It has been suggested by several epidemiological studies that PON1 polymorphisms as well as PON1 activity have a direct association with the incidence of coronary heart disease. Even if such association has not been consistently demonstrated by other studies, there is more evidence that suggest PON1 as an antiatherogenic enzyme.

KEY WORDS: Paraoxonase, lipoperoxidation, lipoproteins, HDL, atherosclerosis.

INTRODUCCION

Es bien conocido que la concentración plasmática de colesterol asociado a las lipoproteínas de alta densidad (HDL) presenta una correlación negativa con el riesgo de aterosclerosis. Uno de los mecanismos que explican esta relación es la participación de las HDL en el transporte reverso de colesterol, que se define como el regreso de colesterol proveniente de las células periféricas hacia el hígado para su excreción o reciclaje. Sin embargo, recientemente el papel antiaterogénico de las HDL se ha centrado en su capacidad antioxidante, propiedad atribuida principalmente a la paraoxonasa 1 (PON1). Sin ser una proteína estructural, la enzima se asocia físicamente a las HDL por interacciones hidrofóbicas entre fosfolípidos y la proteína. Existen algunas evidencias epidemiológicas que han sugerido la participación de la actividad de la PON1 y de ciertas isoformas de la enzima, en la protección contra el desarrollo de la enfermedad aterosclerosa coronaria (EAC). No obstante, estos hallazgos no han sido consistentes en todos los estudio epidemiológicos al respecto. A partir de su posible papel protector contra la aterosclerosis, diferentes gru-

*Recibido: 11 de marzo 2002 Aceptado: 8 de octubre de 2002

Departamento de Fisiología. Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez". Juan Badiano 1. C.P. 14080, México D.F. Correspondencia: Oscar Pérez-Méndez. Departamento de Fisiología.Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" Juan Badiano 1 Col.Sección XVI. 14080 México D.F. Tel. 55 73 - 29 11 ext. 1278. Fax 55 73 - 09 26. Correo E: aozpxh@liceaga.facmed.unam.mx

pos de investigación han centrado sus esfuerzos en dos vertientes: por una parte, corroborar la relación inversa de la PON1 con la EAC y por otra, describir los mecanismos de acción de la enzima. En esta revisión presentamos las características estructurales de la paraoxonasa descritas hasta el momento, las evidencias epidemiológicas que apoyan su papel antiaterógenico y los hallazgos bioquímicos que lo explican.

ESTRUCTURA Y ESPECIFICIDAD DE LA PARAOXONASA 1

El gen de la PON1 es miembro de una familia que comprende al menos tres genes relacionados en el humano, PON1, PON2 y PON3. El gen PON1 está localizado en el brazo largo del cromosoma 7 (cromosoma 6 en el ratón) y consiste de nueve exones y ocho intrones que se extienden entre 25 y 26 Kb. La expresión del gen PON1 da origen a una glicoproteína PON1 de 354 residuos de aminoácidos y de masa aparente entre 43 y 45 kD. La proteína madura retiene su péptido señal con excepción del residuo iniciador de metionina. La enzima se sintetiza en hígado y queda anclada a la membrana gracias a la interacción de su péptido señal con los fosfolípidos de la membrana del hepatocito. Sin embargo, no existen reportes que hayan descrito actividad PON1 en compartimentos extraplasmáticos, probablemente porque el microambiente membranal no le proporciona a la enzima las condiciones ideales para manifestarla. Para que la PON1 abandone la membrana del hepatocito hacia su destino final, el plasma, requiere de un aceptor formado por compuestos anfipáticos (detergentes no iónicos o fosfolípidos), organizado en micelas o bicapas anfipáticas y que posea una tensión de superficie adecuada(1). In vivo, este aceptor son las HDL, particularmente a la subfracción HDL3 que comprende las partículas

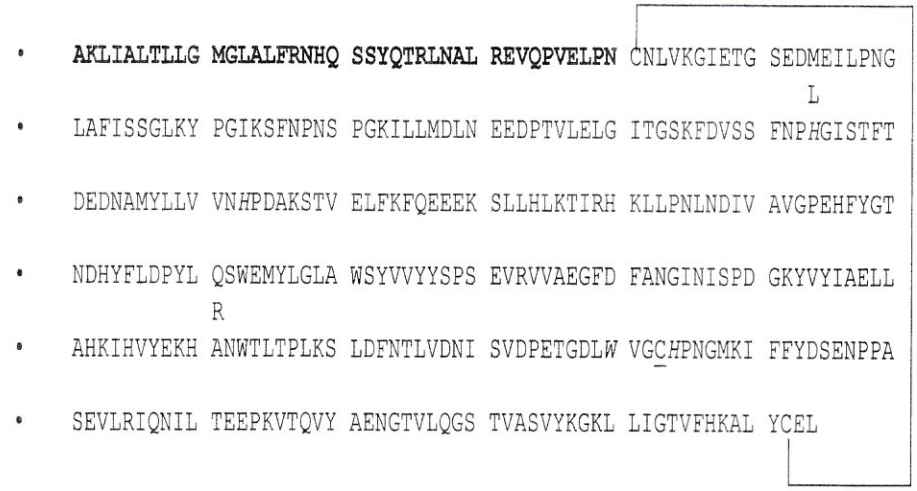


Figura 1. *Esquema de la estructura primaria de la PON1 humana. Los aminoácidos están representados por su código de una letra. Los aminoácidos involucrados en la actividad hidrolítica de la enzima se destacan con letras itálicas. La región N-terminal (negritas) está involucrada en la unión a las HDL por medio de interacciones hidrofóbicas con los fosfolípidos y con la apo AI. La línea continua representa el enlace disulfuro entre los residuos de cisteina 41 y 352. Las estructuras secundaria y terciaria, así como los aminoácidos específicos involucrados en la interacción con las HDL no han sido descritos*

más pequeñas y densas de la familia de lipoproteínas de alta densidad. La asociación enzima-lipoproteína está mediada por la interacción hidrofóbica de su extremo N-terminal (péptido señal) con los fosfolípidos y las apolipopro-teínas de las HDL (Fig. 1). Esta asociación PON1-HDL es un argumento adicional al transporte reverso de colesterol que explica por qué los bajos niveles de C-HDL son un factor de riesgo de desarrollar EAC. De esta manera, las HDL son un factor limitante para la expresión de PON1 plasmática; si no existen suficientes HDL, en particular HDL3, el número de moléculas de PON1 en circulación se verá limitada y los procesos de lipoperoxidación descritos más adelante no podrán ser suficientemente atenuados.

La paraoxonasa contiene tres residuos de cisteína. En la enzima humana, los residuos Cys41 y Cys352 forman un puente disulfuro (Fig. 1). La Cys283 es un grupo sulfhidrilo libre y a pesar de que este residuo no forma parte del sitio activo de la enzima, es indispensable para su actividad. Los residuos de histidina 114, 133 y 284 son también indispensables para su acción hidrolítica, mientras que el Trp 280 forma parte del sitio activo de la enzima y está probablemente involucrado en la unión con los substratos aromáticos (2) (Fig. 1). La paraoxonasa requiere de calcio para estabilizarse y para su actividad catalítica, por lo que las muestras de plasma obtenidas con EDTA u otro tipo de agentes quelantes son inadecuadas para determinar la actividad de la enzima. En este sentido, se ha sugerido que los residuos de Glu 52 y de Asp 53 están involucrados en la fijación de Ca^{2+}. Otros iones metálicos divalentes, como el Zn^{2+} y el Cd^{2+}, evitan la desnaturalización de la enzima, pero carecen de la capacidad de conferirle actividad catalítica.

La PON1 es una enzima esterasa tipo A con especificidad muy amplia sobre diferentes compuestos no naturales: arilésteres, lactonas y organofosfatos, incluyendo agentes altamente tóxicos como el sarín y el

somán. Uno de los substratos más utilizados para el estudio de la enzima es el paraoxón (O,O-dietil-O-p-nitrofenil fosfato), un potente inhibidor de las colinesterasas . Históricamente, fue el primer compuesto con el que se puso de manifiesto la existencia de la enzima y de él se deriva el nombre de paraoxonasa. Otro de los substratos no naturales que se ha utilizado extensivamente para el estudio de la PON1 es el fenilacetato (Fig. 2). Es importante destacar que, debido a la amplia utilización de los dos últimos substratos mencionados, se ha adoptado el término de "actividad de paraoxonasa" cuando se usa paraoxón como substrato de la PON1. De igual forma, cuando se usa fenilacetato, se hace referencia a la "actividad de arilesterasa" de la PON1. La actividad de paraoxonasa depende de la isoforma de la enzima de la que se trata (ver más adelante los polimorfismos de la PON1), mientras que la actividad de arilesterasa no se ve afectada por el polimorfismo de la PON1 y en consecuencia es representativa de la cantidad de enzima activa presente en suero.

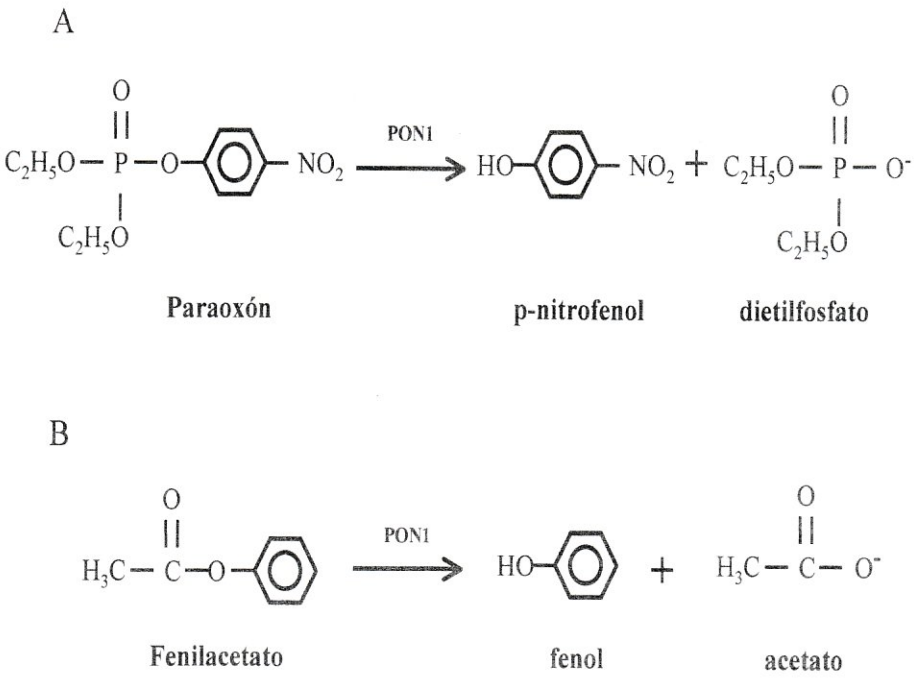


Figura 2. *Reacciones de hidrólisis de dos arilésteres catalizadas por la PON1. A), hidrólisis de paraoxón, un potente inhibidor de las colinesterasas. Esta reacción tiene una función destoxificadora, debido a que los derivados hidroxilo son inocuos. B), hidrólisis del fenilacetato. No se ha descrito hasta el momento el significado fisiológico de esta reacción.*

POLIMORFISMOS PON1

La paraoxonasa es una enzima polimórfica. Se han descrito fundamentalmente dos polimorfismos en esta enzima, ambos debidos a la substitución de un aminoácido. El primero consiste en la substitución de glutamina (Q) por arginina (R) en la posición 191 (polimorfismo Q191R), que corresponden a los fenotipos A y B, respectivamente, de la clasificación de Adkins y colaboradores (3). El segundo, se caracteriza por el reemplazamiento de la leucina (L) por metionina (M) en la posición 54 (polimorfismo L54M, Fig.1). Ambos polimorfismos se segregan de manera mendialiana codominante y en consecuencia, dos de las cuatro diferentes aloenzimas posibles (Q191/L54, Q191/54M, 191R/L54, 191R/54M) están presentes en el plasma humano (3). Ciertos autores consideran al residuo iniciador de metionina como parte de la secuencia de la proteína madura. En consecuencia, los polimorfismos arriba descritos corresponden a los residuos 192 y 55, respectivamente.

La velocidad de reacción de paraoxonasa (con paraoxón como substrato) de la aloenzima 191R se incrementa considerablemente con NaCl a una concentración de 1M, mientras que los parámetros cinéticos de la aloenzima Q191 no se estimulan en presencia de una fuerza iónica elevada. Bajo estas condiciones, la relación de actividades paraoxonasa/arilesterasa es aproximadamente de 1 y de 8 para las isoenzimas Q191 y 191R, respectivamente. Esta propiedad carece de relevancia fisiológica, pero ha sido explotada para estimar los polimorfismos en posición 191 en humanos (4) por un método bioquímico, práctico, rápido, económico y potencialmente automatizable.

LA PARAOXONASA COMO FACTOR DE PROTECCIÓN CONTRA LA ENFERMEDAD ATEROSCLEROSA CORONARIA

La importancia fisiológica de la paraoxonasa quedó demostrada con los estudios realizados en ratones modificados genéticamente cuyo gen PON1 fue anulado (5). Estos ratones fueron más sensibles al envenenamiento por organofosfatos y altamente susceptibles a la aterosclerosis inducida por una dieta rica en colesterol, en comparación con los ratones que portaban el gen PON1 activo. En este sentido, resultados preliminares de nuestro laboratorio, sugieren fuertemente que los pacientes con isquemia aterosclerosa coronaria, expresan niveles más bajos de actividad

arilesterasa respecto a sujetos sin diagnóstico de la enfermedad (Pérez-Méndez y cols., datos no publicados).

Las bases moleculares que explican la relación inversa entre la PON1 y la aterosclerosis, se han ubicado en la capacidad que posee la enzima de hidrolizar los lipoperóxidos que participan en la formación de la placa. En efecto, el inicio y la progresión de la placa de ateroma en la pared arterial dependen en buena medida de la peroxidación de las lipoproteínas, en particular de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), peroxidación mediada por radicales libres (Fig. 3). Es a este nivel que la PON1 desempeña su papel protector. Existe además la evidencia de que las HDL aisladas de ratones que no expresan el gen PON1, carecen de la capacidad de evitar la oxidación de las LDL (5). Otros estudios *in vitro* han demostrado la disminución de la activación de monocitos por LDL oxidadas en presencia de PON1. Estos efectos biológicos se relacionan con la habilidad de la PON1 de eliminar los peróxidos asociados a lipoproteínas, dando lugar a los alcoholes correspondientes (Fig. 3), derivados que son inactivos desde el punto de vista de la peroxidación, de la quimiotáxis y del proceso inflamatorio en general. A la actividad catalítica de conversión de lipoperóxidos por los hidróxidos correspondientes, se le ha denominado actividad de lipoperoxidasa (6). Así, la cascada oxidativa de los lípidos de las LDL, y en consecuencia de la progresión de la placa ateromatosa, puede ser interrumpida por la acción de lipoperoxidasa de la paraoxonasa (Fig. 3).

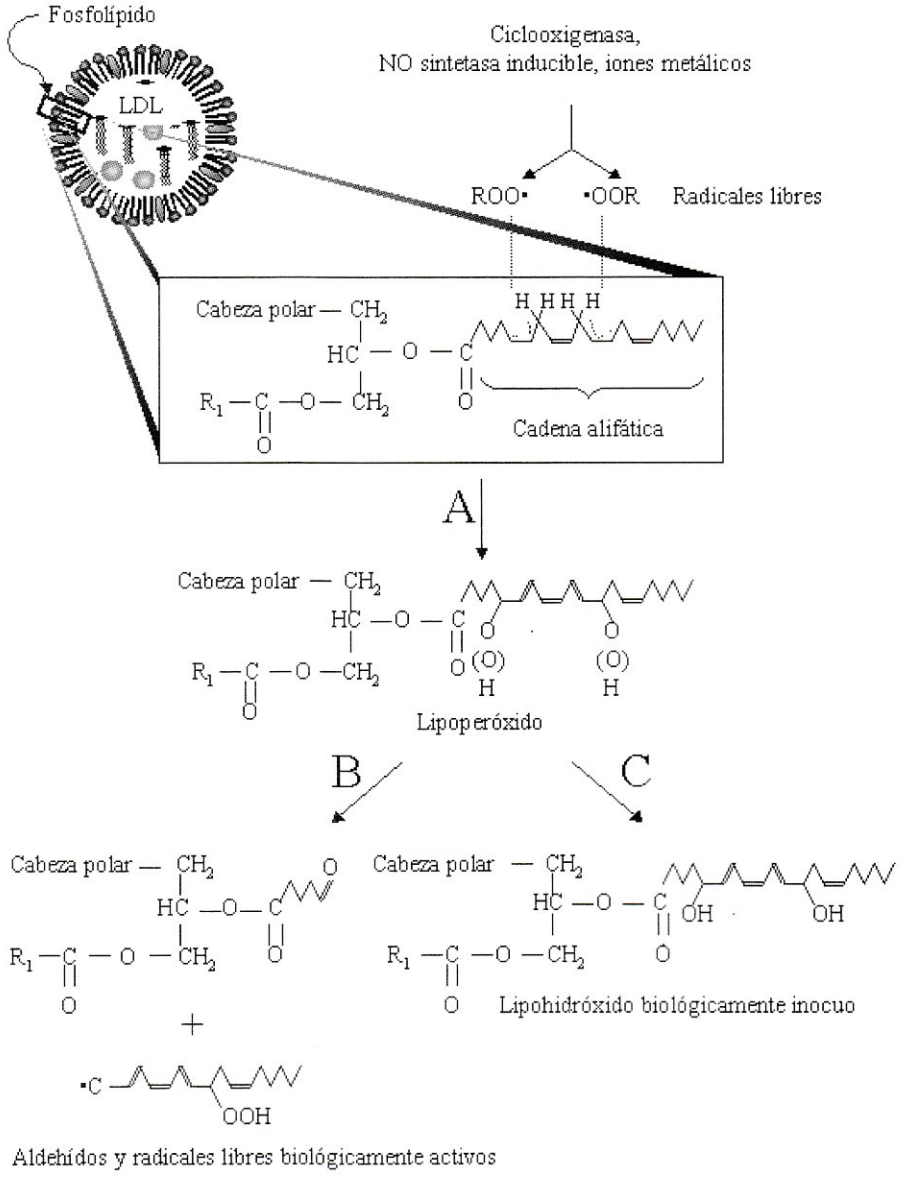


Figura 3. *Actividad de lipoperóxido-hidrolasa de la PON1. Factores como la ciclooxigenasa, sintetasa de óxido nítrico o los iones metálicos, favorecen la generación de radicales libres. A) La interacción de los radicales libres con las cadenas alifáticas de los fosfolípidos de las LDL da origen a lipoperóxidos, que son sustancias ligeramente oxidantes. B) La escisión de los lipoperóxidos produce compuestos fuertemente oxidantes que alteran la estructura de las LDL. C) La paraoxonasa, por medio de su actividad lipoperóxido-hidrolasa, cataliza la eliminación de los lipoperóxidos, generando compuestos que son inactivos en la cascada oxidativa de las LDL.*

La relación entre la PON1 y el desarrollo de la aterosclerosis no se limita a los niveles séricos de actividad enzimática, sino que tienen además una estrecha relación con los polimorfimos, particularmente con el L54M y el Q191R. Diversos estudios epidemiológicos han demostrado una asociación entre estos genotipos de la PON1 y la incidencia de enfermedad aterosclerosa coronaria. Ruíz y colaboradores (7) pusieron de manifiesto en un grupo de pacientes con diabetes mellitus no insulino-dependiente que el riesgo relativo de desarrollar EAC es mayor en los portadores del genotipo 191R de la PON1, en comparación con aquellos pacientes que portan el genotipo Q191. Una mayor incidencia del genotipo 191R también

ha sido demostrada en sujetos con EAC no asociada a diabetes mellitus (8,9). En este sentido, resultados preliminares de nuestro laboratorio indican igualmente una alta incidencia del genotipo 191R en los pacientes mexicanos y con diagnóstico de EAC, tipificados por el método de bisubstrato paraoxón/fenilacetato. Con base en estos resultados que demuestran una mayor incidencia del genotipo 191R en diferentes grupos de pacientes con cardiopatía isquémica coronaria (10), se ha postulado que el genotipo R es un factor predisponente para el desarrollo de la placa ateromatosa.

Surge aquí una paradoja: la aloenzima 191R tiene una mayor actividad específica de paraoxonasa en comparación con la Q191, no obstante, el genotipo 191R resulta ser un factor de riesgo de aterosclerosis. Esta aparente paradoja se ha explicado a partir de la diferente labilidad de ambas isoformas de la PON1; frente a un estrés oxidativo de 6 horas *in vitro* provocado por iones Cu^{2+}, la aloenzima 191R se inactiva casi en su totalidad, mientras que la isoforma Q191 conserva un 60% de su actividad inicial (11). Estos resultados indican claramente que la isoforma 191R es más lábil al estrés oxidativo (como el existente en la zona de formación del ateroma) y en consecuencia la cantidad de enzima activa es menor que en el caso de la isoforma Q191. La inactivación de la PON1 ocurre por una interacción de sulfhidrilo libre del residuo de Cys 284 con los fosfolípidos oxidados o los ésteres de colesterol oxidados que se forman durante la oxidación de las LDL. Es probable que la presencia de arginina en la posición 191 promueva una estructura terciaria en donde el grupo sulfhidrilo en cuestión se expone al medio externo y por ello es más lábil que la aloenzima Q191. La actividad de la enzima se puede preservar por medio de agentes bloqueadores de grupos sulfhidrilo como el p-hidroximercurobenzoato (12) o por sustancias antioxidantes que reaccionan directamente con los radicales libres, como los flavonoides del vino tinto (13) y la vitamina E (14). De esta manera, es posible que los sujetos que portan el genotipo 191R requieran de un aporte mayor de antioxidantes, por ejemplo en la dieta, que los que expresan el genotipo Q191.

En cuanto al polimorfismo L54M, se ha sugerido que la isoforma que contiene leucina en esa posición es también un factor de riesgo de enfermedad aterosclerosa, de manera independiente o en asociación con el genotipo R (15). Es posible que la isoforma L54 resulte en una disminución de la expresión de la proteína y de ahí se desprenda su papel como factor de riesgo de aterosclerosis. Sin embargo los mecanismos que conducen a este hecho son aún desconocidos.

Por otra parte, es bien aceptado el concepto del papel protector que tienen las HDL contra el desarrollo del ateroma. La oxidación de las HDL reduce sustancialmente su habilidad como aceptor de colesterol excedente de los tejidos periféricos. En este sentido, la paraoxonasa también desempeña una función antiaterogénica indirecta, al prolongar la capacidad de las HDL de promover el eflujo de colesterol de células en cultivo. El fundamento de esta observación experimental radica en la eliminación de los lipoperóxidos de las HDL, lo que se traduce en la conservación de su estructura y de su función. En este orden de ideas, existe además una correlación positiva entre la concentración de C-HDL o de apo A-I (16) y la actividad enzimática de la paraoxonasa. Tal correlación se podría explicar desde la perspectiva de que las HDL funcionan como aceptor de la enzima como se ha descrito previamente. Así, la cantidad de partículas HDL podría limitar el número de moléculas de la enzima presente en plasma. Asimismo, los incrementos de C-HDL y apo A-I inducidos por la ingesta de alcohol, se asocian con un incremento de actividad paraoxonasa en suero. La asociación paraoxonasa-HDL representa entonces una explicación adicional a las observaciones epidemiológicas que marcan consistentemente a los bajos niveles de C-HDL como un factor de riesgo de enfermedad aterosclerosa coronaria.

Otros estudios no han logrado poner de manifiesto una relación entre el fenotipo PON1 y la incidencia de aterosclerosis. Sin embargo, algunos de esos estudios sí han demostrado que la actividad de arilesterasa de la paraoxonasa se encuentra disminuida en sujetos diabéticos (17), cuyo riesgo de desarrollar cardiopatía isquémica coronaria es alto. Cabe destacar que la actividad enzimática de la paraoxonasa medida con paraoxón como sustrato, no se correlaciona con el riesgo de desarrollar aterosclerosis, pese a estar directamente afectada por el fenotipo Q191R.

No obstante las evidencias que apuntan hacia un papel antiaterógenico de la paraoxonasa, la correlación HDL y PON1 no es consistente en todos los estudios (18). Además, la expresión de la paraoxonasa no se incrementa en paralelo con el incremento de las HDL en pacientes tratados con fibratos. Por otra parte, la dieta alta en colesterol induce una disminución en la expresión y la actividad de la enzima, independientemente del nivel C-HDL. Todos estos resultados indican que la actividad de la paraoxonasa no está sujeta únicamente al nivel de HDL plasmáticas, sino que su expresión está regulada preferentemente por factores genéticos y ambientales.

En otro orden de ideas, varios estudios epidemiológicos han demostrado que ni el fenotipo, ni la actividad PON1 representan un factor de ries-

go de aterosclerosis (Tabla I). Las explicaciones a tales controversias pueden ser variadas. Por una parte, los estudios que han puesto de manifiesto una asociación entre el fenotipo o la actividad de paraoxonasa con el riesgo de desarrollar enfermedad aterosclerosa, en general han incluido pacientes diabéticos. En contraposición, los estudios que han demostrado que la paraoxonasa no representa un factor de riesgo, en general no hacen énfasis en los sujetos diabéticos. Es importante considerar la presencia de diabetes en los sujetos de estudio, y muy particularmente el grado de descontrol glucémico, debido a que se ha demostrado la inactivación progresiva de la PON1 por efecto de la glucosilación inespecífica que se logra por incubación de la enzima en soluciones con alto contenido de glucosa (19). Los pacientes con un control inadecuado de los niveles de glucosa plasmática podrían ser entonces los más susceptibles a tener una actividad disminuida de la paraoxonasa. En esos casos, con bajos niveles basales de actividad lipoperóxido-hidrolasa por la glucosilación de la paraoxonasa (19), la labilidad del fenotipo 191R frente al estrés oxidativo podría ser el factor que abate la actividad de la enzima hasta niveles críticos, al punto de permitir que se desencadene la cascada oxidatitiva y el desarrollo del ateroma.

Por último, los resultados de diferentes estudios sugieren que el papel antiaterogénico de la paraoxonasa está supeditado al tipo étnico al que pertenecen los pacientes (Tabla I). Sin embargo, se requieren más evidencias para afirmar que la participación de la carga genética determina si la paraoxonasa se desempeñará o no como enzima protectora contra la aterosclerosis.

En conclusión, existen evidencias epidemiológicas que señalan a la paraoxonasa como una enzima antiaterogénica. Estas observaciones han encontrado apoyo y explicaciones en los hallazgos realizados *in vitro*, en donde se ha demostrado que la paraoxanasa 1 evita la formación y acumulación de los lipoperóxidos involucrados en el inicio y propagación del proceso ateromatoso. Tal actividad antiaterogénica provee además una explicación a la relación inversa que existe entre las lipoproteínas de alta densidad y la enfermedad aterosclerosa coronaria, relación que no ha podido ser explicada satisfactoriamente hasta ahora. Los antioxidantes tipo la vitamina E y los flavonoides contribuyen a preservar la actividad de la PON1, reaccionando directamente con parte de los radicales libres, potenciando así su efecto antiaterogénico. La controversia existente en el ámbito de los estudios epidemiológicos respecto al papel protector de la PON1 y el genotipo 191R como factor de riesgo, podría conciliarse con la determinación de las actividades PON1 a las que no se les ha dado la importancia que parecen tener. De esta manera, contaremos con un elemento adicional para determinar el riesgo de desarrollar aterosclerosis en conjunto con la determinación de los genotipos de la PON1. Otros factores, como las cargas genéticas, patologías asociadas, regulación del gen PON1 por agentes químicos y ambientales, deberán considerarse para dar un valor diagnóstico a la actividad PON1 y sus polimorfismos.

Pese a todas las evidencias presentadas, no se debe perder de vista que el proceso ateromatoso es multifactorial, involucra tanto respuestas inflamatorias como disfunción endotelial e incluso receptores y factores ambientales. Por lo tanto, no podemos considerar a la paraoxonasa 1 (su actividad y polimorfismos) como la única causa de la aparición o no aparición del ateroma; debe contemplarse, como un factor adicional que puede retardar, bajo ciertas condiciones, el proceso ateromatoso.

TABLA I

ESTUDIOS RECIENTES ACERCA DE LA ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO Q191R DE LA PON1 Y LA ENFERMEDAD ATEROSCLEROSA CORONARIA EN DIFERENTES POBLACIONES.

Población	n (EAC+/EAC-)	Alelo R (%) (EAC+/EAC-)	Valor P	Referencia
Alemana	1000/1000	27/27	N.S.	(20)
Estadounidense	118/118	41/33	0.01	(8)
Española	215/215	32/27	N.S.	(18)
Francesa	171/263	35/26	0.0001	(7)
Turca	96/105	38/31	N.S	(21)

Se indican los estudios más recientes y significativos que demuestran la variación étnica en el riesgo cardiovascular asociado a los polimorfismos de la PON1. EAC, enfermedad aterosclerosa coronaria. NS, sin significado estadístico

REFERENCIAS

1. Deakin S, Leviev I, Gomaraschi M, Calabresi L, Franceschini G y James RW (2002) Enzymatically active paraoxonase-1 is located at the external membrane of producing cells and released by a high affinity, saturable, desorption mechanism. J Biol Chem *277*:4301-4308

2. Josse D, Xie W, Masson P y Lockridge O (1999) Human serum paraoxonase (PON1): identification of essential amino acid residues by group-selective labelling and site-directed mutagenesis. Chem Biol Interact *119-120*:71-78

3. Adkins S, Gan KN, Mody M y LaDu B (1993) Molecular basis for the polymorphic forms of human serum paraoxonase/arylesterase: glutamine or arginine at position 191, for the respective A or B allozymes. Am J Hum Genet *52*:598-608

4. Eckerson HW, Romson J, Wyte C y LaDu B (1983) The human serum paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts. Am J Hum Genet *35*:214-227

5. Shih DM, Gu L, Xia YR, Navab M, Li WF, Hama S, Castellani LW, Furlong CE, Costa LG, Fogelman AM y Lusis AJ (1998) Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. Nature *394*:284-287

6. Aviram M, Hardak E, Vaya J, Mahmood S, Milo S, Hoffman A, Billicke S, Draganov D y Rosenblat M (2000) Human serum paraoxonases (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON1 esterase and peroxidase-like activities. Circulation *101*:2510-2517

7. Ruiz J, Blanche H, James RW, Garin MC, Vaisse C, Charpentier G, Cohen N, Morabia A, Passa P y Froguel P (1995) Gln-Arg192 polymorphism of paraoxonase and coronary heart disease in type 2 diabetes. Lancet *346*:869-872

8. Voetsch B, Benke KS, Damasceno BP, Siqueira LH y Loscalzo J (2002) Paraoxonase 192 Gln—>Arg polymorphism: an independent risk factor for nonfatal arterial ischemic stroke among young adults. Stroke *33*:1459-1464

9. Azizi F, Rahmani M, Raiszadeh F, Solati M y Navab M (2002) Association of lipids, lipoproteins, apolipoproteins and paraoxonase enzyme activity with premature coronary artery disease. Coron Artery Dis *13*:9-16

10. Serrato M y Marian AJ (1995) A variant of human paraoxonase/arylesterase (HUMPONA) gene is a risk factor for coronary artery disease. J Clin Invest *96*:3005-3008

11. Mackness B, Mackness MI, Arrol S, Turkie W y Durrington PN (1998) Effect of the human serum paraoxonase 55 and 192 genetic polymorphisms on the protection by high density lipoprotein against low density lipoprotein oxidative modification. FEBS Lett *423*:57-60

12. Aviram M, Rosenblat M, Billecke S, Erogul J, Sorenson R, Bisgaier CL, Newton RS y LaDu B (1999) Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. Free Radic Biol Med *26*:892-904

13. Fuhrman B y Aviram M (2002) Preservation of paraoxonase activity by wine flavonoids: possible role in protection of LDL from lipid peroxidation. Ann N Y Acad Sci *957*:321-324

14. Aviram M (1999) Macrophage foam cell formation during early atherogenesis is determined by the balance between pro-oxidants and anti-oxidants in arterial cells and blood lipoproteins. Antioxid Redox Signal *1*:585-594

15. Schmidt H, Schmidt R, Niederkorn K, Gradert A, Schumacher M, Watzinger N, Hartung HP y Kostner GM (1998) Paraoxonase PON1 polymorphism Leu-Met54 is associated with carotid atherosclerosis: results of the Austrian Stroke Prevention Study. Stroke *29*:2043-2048

16. Lin TJ, Yang DY, Jiang DD, Hung DZ, Hsu CL y Tsai MS (2002) Relationship of paraoxonase and serum lipids in Taiwan. Kaohsiung J Med Sci *18*:127-133

17. Sakai T, Matsuura B y Onji M (1998) Serum paraoxonase activity and genotype distribution in Japanese patients with diabetes mellitus. Intern Med *37*:581-584

18. Ferre N, Tous M, Paul A, Zamora A, Vendrell JJ, Bardaji A, Camps J, Richart C y Joven J (2002) Paraoxonase Gln-Arg(192) and Leu-Met(55) gene polymorphisms and enzyme activity in a population with a low rate of coronary heart disease. Clin Biochem *35*:197-203

19. Hedrick CC, Thorpe SR, Fu MX, Harper CM, Yoo J, Kim SM, Wong H y Peters AL (2000) Glycation impairs high-density lipoprotein function. Diabetologia *43*:312-320

20. Cascorbi I, Laule M, Mrozikiewicz PM, Mrozikiewicz A, Andel C, Baumann G, Roots I y Stangl K (1999) Mutations in the human paraoxonase 1 gene: frequencies, allelic linkages, and association with coronary artery disease. Pharmacogenetics *9*:755-761

21. Aynacioglu AS y Kepekci Y (2000) The human paraoxonase Gln-Arg192 (Q/R) polymorphism in turkish patients with coronary artery disease. Int J Cardiol *74*:33-37

REB 21(4):252-257, 2002

El Hueso como un Órgano Blanco de la Intoxicación con Plomo*

Gloria Emelí Cortina Ramírez y José Víctor Calderón Salinas

RESUMEN

El hueso se caracteriza por tener una matriz extracelular compuesta por un componente orgánico formado por proteínas y un componente inorgánico constituido por sales minerales. Las células óseas son las responsables de mantener el equilibrio entre los procesos de formación y resorción ósea, que permiten el desarrollo y mantenimiento de la masa esquelética. Durante una exposición a plomo el hueso es el principal órgano de acumulación de este metal. El plomo se encuentra en los huesos formando sales óseas semejantes a las que forma el calcio, uniéndose a proteínas de la matriz orgánica y en las células óseas. Con base en estudios tanto *in vivo* como *in vitro*, se ha sugerido que la gran acumulación de plomo en los huesos tiene como consecuencias alteraciones en el desarrollo de los huesos y en la función de las células óseas. Estos hallazgos muestran que el papel del hueso en la intoxicación con plomo podría ser no sólo como un órgano pasivo de acumulación, sino también como un órgano blanco de los efectos tóxicos de este metal. Sin embargo, los mecanismos de toxicidad del plomo en los huesos aún no son entendidos completamente. En esta revisión se presenta un panorama general acerca de los efectos de la exposición a plomo sobre el desarrollo óseo y sobre la función celular ósea, que muestran al hueso como un posible órgano blanco en la intoxicación con plomo.

PALABRA CLAVE: Hueso, intoxicación con plomo.

ABSTRACT

Bone is characterized for an extra cellular matrix composed by an organic component with proteins and inorganic component constituted of mineral salts. Bone cells are responsibles to maintain bone formation and bone resorption equilibrium, in order to get bone development and skeletal volume maintenance. During lead exposition, bones are the main lead accumulation organs. Lead is found in bone forming salts, similar to bone calcium salts, binding organic matrix proteins and into bone cells. Based on *in vitro* and *in vivo* studies, it has been suggested that the big accumulation of lead in bones has as consequences alterations in bone development and disruptions on bone cells functions. All these evidences show that the bone role in lead intoxication could be not only acting as a passive lead accumulation organ but also as a target organ of toxic effects of lead. However toxicity mechanisms of lead on bone are not completely understood. This review presents a general overview of lead exposition effects on bone development and on bone cellular function, showing bone as possible target organ in lead intoxication.

KEY WORDS: Bone, lead intoxication.

INTRODUCCIÓN

En los huesos se acumula aproximadamente el 95% del plomo retenido por un organismo (1). La gran acumulación de plomo en el hueso y su aparente resistencia a los efectos tóxicos de este metal, han conducido a considerar al hueso como un órgano de acumulación de plomo más que como un órgano blanco de la intoxicación con plomo. Sin embargo, esta idea ha estado cambiando debido a que como consecuencia de la exposición a este metal se han observado diferentes alteraciones en el sistema esquelético. De manera general, se observa en animales de experimentación y en niños un retraso en la formación y crecimiento de los huesos y en fetos de animales de experimentación malformaciones óseas, todas estas alteraciones relacionadas con diferentes condiciones de exposición a plomo (2, 3, 4, 5).

Los mecanismos involucrados en

*Recibido: 17 de julio de 2002 Aceptado 8 de octubre de 2002

Departamento de Bioquímica del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del I.P.N. Apartado Postal 14-740, C.P 07300, México, D.F. Tel. 5747-3800, ext 5265, Correo E: gcortina@mail.cinvestav.mx

estos fenómenos no han sido esclarecidos a la fecha pero se cree que puedan estar asociados principalmente con cambios en la función de las células óseas. El objetivo de esta revisión es el de presentar un resumen acerca de las características del plomo como agente tóxico, su relación con la estructura ósea y con la función de las células en este tejido y citar las evidencias que señalan la posibilidad de que el hueso resulte ser un órgano blanco en la intoxicación con plomo y no sólo un órgano pasivo de acumulación de este metal.

GENERALIDADES SOBRE EL PLOMO

El plomo es un metal pesado que se encuentra ampliamente distribuido en el ambiente, resultado de su abundancia y de su uso en la industria. Actualmente las mayores emisiones de este metal son producidas en las plantas de fundición de metales y procesadoras de plomo, pero también son fuentes importantes de contaminación con plomo el reciclaje de acumuladores y baterías, así como el uso de pinturas con plomo y de cerámica y barro vidriado para cocinar y servir alimentos (6). Todo esto, aunado a los fenómenos de distribución y biodisponibilidad característicos de este metal, hacen que la intoxicación con plomo continúe representando un problema de salud pública a nivel mundial.

PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL PLOMO

El plomo tiene como símbolo Pb (del latín *plumbum*). Su número atómico es 82 y se encuentra en el grupo IV A de la tabla periódica. El plomo es un metal blando, maleable y dúctil. Presenta baja resistencia a la tracción y es un mal conductor de la electricidad. Tiene un punto de fusión de 328 °C y un punto de ebullición de 1740 °C. Su densidad relativa es de 11.34 y su masa atómica de 207.20 (7).

El plomo se encuentra ampliamente distribuido por todo el planeta en forma de galena (sulfuro de plomo). Ocupa el lugar 36 en abundancia entre los elementos de la corteza terrestre. La cerusita y la anglesita son sus formas más importantes después de la galena. Los principales depósitos de plomo se encuentran en Rusia, Australia, Estados Unidos, Canadá, México, Perú y España (7).

RELACIÓN DEL PLOMO CON MACROMOLÉCULAS

El plomo puede unirse a macromoléculas como las proteínas y lípidos de las membranas celulares. El plomo posee alta afinidad por las proteínas a las cuales se une por interacción con sitios estereoespecíficos que constituyen los sitios de unión natural a iones divalentes como calcio y zinc, también se une por interacción electrostática con dominios proteicos con alta densidad de carga negativa y por interacción con grupos sulfhidrilos vecinales. La relación existente entre el plomo y los lípidos de membranas celulares radica en la posibilidad de inducir lipoperoxidación. Solo a concentraciones altas de plomo este puede inducir de manera directa la lipoperoxidación, mientras que a concentraciones bajas inhibe la síntesis del grupo hemo, incrementando la concentración del ácido d-aminolevulínico, las proto-porfirinas eritrocitarias libres, los grupos hemo libres y el hierro libre, induciendo así de forma indirecta la lipoperoxidación (7).

RELACIÓN DEL PLOMO CON EL CALCIO

El plomo se absorbe en el intestino principalmente a través del mismo mecanismo que el calcio, lo cual establece competencia entre ambos iones. Este mecanismo consiste de una proteína transportadora denominada calbindina. Una vez absorbido, el plomo se distribuye en el organismo de manera similar al calcio y su distribución al igual que la del calcio es influenciada por diversos factores como la edad, la dieta y estados fisiológicos como el crecimiento, el embarazo, la lactancia o estados fisiopatológicos como la reparación de una fractura (7, 8, 9).

La absorción intestinal de plomo se ve incrementada cuando la exposición a este metal es acompañada por una dieta deficiente en calcio. Las dietas deficientes en calcio estimulan la secreción de la hormona calcitriol o también conocida como vitamina D_3 ($1,25(OH)_2D_3$), la cual induce la síntesis de la proteína calbindina favoreciéndose así la absorción de calcio y en presencia de plomo también la de este metal.

En el caso de deficiencias severas de calcio y exposiciones prolongadas a plomo, se observa una disminución importante de los niveles normales de $1,25(OH)_2D_3$ en sangre y como consecuencia la absorción de calcio y de plomo también disminuyen.

El exceso de calcio en la dieta administrado a ratas preñadas y lactando produce un aumento en la resorción del plomo previamente depositado en los huesos, resultado de una cinética distributiva de calcio estimulada por el estado fisiológico y el incremento de calcio en la dieta. Este incremento de la resorción ósea de plomo tiene como consecuencia el aumento de la concentración sanguínea de este metal y de su redistribución, por lo que a este fenómeno se le ha denominado "autointoxicación" (9).

Estas observaciones hacen evidentes las similitudes que presentan el calcio y el plomo en cuanto a su absorción, interacción con macromoléculas y cinética distributiva aunque estos fenómenos aún no son comprendidos completamente.

ABSORCIÓN, DISTRIBUCIÓN Y EXCRECIÓN DE PLOMO

Las principales vías de absorción de plomo son los sistemas gastrointestinal y respiratorio. Una vez en el organismo el plomo se distribuye por medio de la sangre a órganos y tejidos. El plomo muestra alta afinidad por los huesos, donde se integra

a las sales óseas similares a la hidroxiapatita y uniéndose a las proteínas de la matriz extracelular, por lo que se ha considerado a los huesos como órganos de acumulación, en los cuales se localiza aproximadamente el 95% del plomo en un organismo (1). Sin embargo, la permanencia del plomo en los huesos no es definitiva, siendo la principal razón las similitudes que la cinética distributiva del plomo comparte con el calcio.

El plomo se excreta principalmente por la orina (76% del total excretado). Vías menores de eliminación de plomo se consideran a las secreciones gastrointestinales (16%) y en menor proporción por la descamación de la piel, a través del cabello, las uñas y el sudor (8%) (8) (Fig. 1).

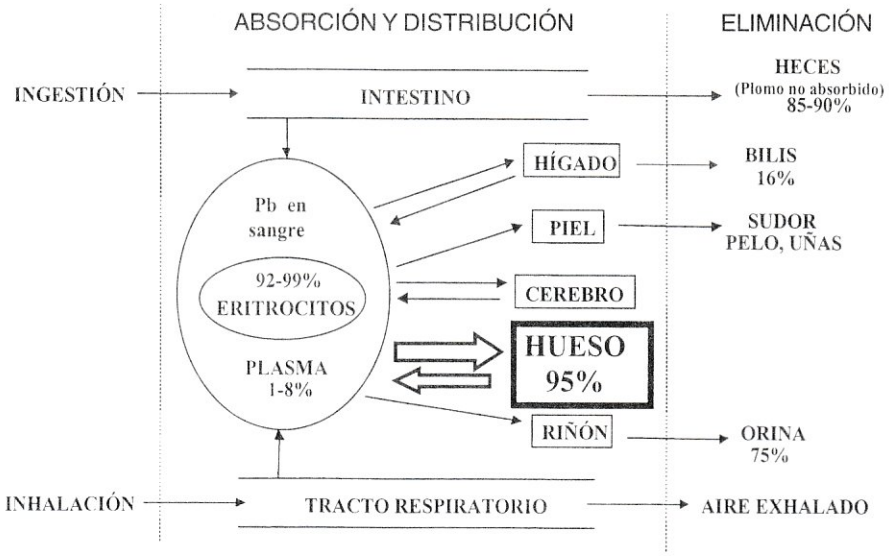


Figura 1. *Distribución de plomo en el organismo humano. Con flechas gruesas se indican los fenómenos de adsorción y resorción ósea de plomo. Los porcentajes indican la absorción y excreción en cada una de las vías indicadas.*

RELACIÓN ENTRE EL PLOMO Y LA ESTRUCTURA Y FUNCIÓN CELULAR ÓSEA

La Matriz Extracelular Ósea

El 35% de la matriz extracelular ósea corresponde al componente orgánico, dentro del cual la colágena tipo I es la proteína más abundante (aproximadamente el 95%), encontrándose también proteoglicanos y numerosas proteínas de tipo no colágena como la osteocalcina, la osteonectina, la sialoproteína ósea y la fosfatasa alcalina. El componente inorgánico correspondiente al 65% de la matriz extracelular ósea lo constituye la hidroxiapatita [$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$], que es el mineral que le proporciona fuerza y dureza al hueso, a la vez que es el lugar donde se almacena el 99% del calcio y el 80% del fósforo en el organismo (10).

El plomo puede unirse a las proteínas del componente orgánico y sustituir al calcio en las sales del componente inorgánico. Debido a esto la matriz extracelular ósea es el sitio dentro de los huesos donde se deposita de manera más abundante el plomo y es el factor que contribuye de manera más importante a la afinidad que presenta el plomo por el tejido óseo.

TIPOS DE ESTRUCTURAS ÓSEAS

Morfológicamente se distinguen dos tipos de hueso. El hueso compacto consiste de una masa sólida, donde las láminas de fibras de colágena están densamente empacadas en forma concéntrica alrededor de los conductos de Havers que contienen tejido nervioso y vasos sanguíneos. El hueso esponjoso se compone de un entramado de trabéculas de matriz ósea que se disponen de forma tridimensional, creando cavidades comunicadas ocupadas por tejido medular o mieloide (10).

A través del sistema vascular contenido en los conductos de Havers el plomo tiene acceso desde la sangre al tejido óseo y usa la misma vía para redistribuirse desde el hueso a otros tejidos. El hueso trabecular es donde se ha sugerido que hay una mayor movilidad de plomo y es también donde el plomo se encuentra más accesible para su redistribución (11).

ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LAS CÉLULAS ÓSEAS

Una pequeña fracción del plomo que se deposita en los huesos, se encuentra interactuando con las células de este tejido, lo que podría tener como resultado alteraciones de la función celular ósea como veremos más adelante.

Las células óseas aunque solo conforman 2% del peso total de los huesos son las responsables de su formación y mantenimiento. En el tejido óseo se reconocen cuatro tipos de células: osteoprogenitoras, osteoblastos, osteocitos y osteoclastos (12). Los osteoblastos y los osteoclastos actúan de manera coordinada y son considerados como la unidad funcional del hueso. Los osteoblastos sintetizan, transportan y secretan, de manera diferencial y dependiente de su estado de diferenciación, proteínas de la matriz ósea como la colágena tipo I, la fosfatasa alcalina, la osteopontina, la sialoproteína ósea y la osteocalcina e inician el proceso de mineralización (13). Los osteoclastos son responsables de la resorción ósea, solubilizan la fase mineral y secretan enzimas que ayudan a digerir a las proteínas de la matriz y a activar otras enzimas y factores (12).

En el mantenimiento del equilibrio que determina la masa esquelética son los osteoblastos los que se han considerado que ejercen la mayor parte del

control, ya que también se encargan de regular la maduración y la actividad de los osteoclastos (12). Por esta razón es que se ha considerado al osteoblasto, la célula funcionalmente más importante del tejido óseo y es también la célula considerada como un posible blanco de los efectos tóxicos del plomo en el hueso.

El estudio del efecto del plomo sobre los osteoblastos *in vitro,* ha permitido observar que la función de estas células se encuentra alterada por este metal, como veremos enseguida.

EFECTOS DEL PLOMO SOBRE LA FORMACIÓN DEL HUESO Y LA FUNCIÓN DE LAS CÉLULAS ÓSEAS

Diferentes estudios han sugerido que la exposición a plomo produce efectos tóxicos sobre el esqueleto que incluyen alteraciones del desarrollo, la formación / resorción, crecimiento y mantenimiento de los huesos. Las evidencias obtenidas de estudios realizados tanto *in vitro* como *in vivo* se exponen a continuación y en la Tabla 1.

EFECTOS DE LA INTOXICACIÓN CON PLOMO SOBRE LA FORMACIÓN DE LOS HUESOS

Debido a que el metabolismo óseo es más activo en los huesos en formación, lo que facilita la interacción del plomo con los diferentes componentes óseos, éstos parecen ser más sensibles al plomo que los huesos de un adulto (8).

En animales de experimentación se ha observado que el plomo puede atravesar la barrera placentaria y este hecho se ha asociado con malformaciones esqueléticas observadas en los fetos de los animales expuestos a este metal. La exposición a plomo durante la gestación provoca en niños un retraso en el desarrollo de los huesos y de los dientes. Durante el crecimiento tanto en animales de experimentación como en niños la exposición a plomo también retrasa la formación y crecimiento de los huesos lo cual se ve reflejado en menores índices de formación (registros histomorfométricos) y menor estatura y diámetro de la circunferencia torácica (3, 4, 5, 2).

La etiología de los daños al sistema esquelético que causa la exposición a plomo y que conducen a las alteraciones mencionadas se desconoce pero a menudo se relaciona con alteraciones en la función celular del tejido óseo.

EFECTO DE LA EXPOSICIÓN A PLOMO SOBRE LA FUNCIÓN DE LAS CÉLULAS ÓSEAS

Las alteraciones de la función de las células óseas podrían conducir a un desequilibrio de los mecanismos de formación / resorción y cambios en la síntesis o secreción de uno o más constituyentes del componente orgánico de la matriz, lo que hace factible, aunque no comprobado, que se manifiesten defectos macroscópicos en el sistema esquelético.

La exposición a plomo *in vitro* de las células óseas ha demostrado su sensibilidad a este metal, aunque a la fecha estos efectos no han logrado explicar por completo los fenómenos observados por la exposición a plomo *in vivo.*

LOS OSTEOCLASTOS

El plomo de manera indirecta ejerce un efecto inhibidor de la función osteoclástica (5), al disminuir la concentración sanguínea de $1,25(OH)_2D_3$, que estimula la diferenciación de los osteoblastos, los cuales regulan la actividad de los osteoclastos. El plomo puede presentar también un efecto estimulante de la actividad osteo-clástica, que parece ser resultado de una acción directa sobre el influjo de calcio, el cual al aumentar induce la actividad de resorción de los osteoclastos (14). Esto explica el hecho de que una inyección intravenosa de plomo en ratas, causa un incremento de los niveles de calcio en la sangre y de la actividad de la fosfatasa ácida, ambos parámetros asociados con el fenómeno de resorción ósea, sugiriendo que estos fenómenos pueden ser causados por una respuesta biológica de resorción ósea y no por un mecanismo fisicoquímico (15). El efecto del plomo sobre los osteoclastos dependería entonces del tiempo y de la magnitud de la exposición a este metal.

LOS OSTEOBLASTOS

La línea celular ROS 17/2.8 se generó de un osteosarcoma de rata, presenta fenotipo de osteoblasto y constituye el modelo más utilizado para el estudio de diferentes aspectos funcionales de los osteoblastos *in vitro*. Las células ROS 17/2.8 han sido usadas para estudiar el efecto del plomo sobre funciones celulares, por ejemplo la cinética del calcio, la síntesis y secreción de proteínas, la respuesta de estas células a hormonas y factores de crecimiento, aspectos que se han visto afectados por la presencia de plomo en los cultivos como se explica adelante.

EL EFECTO DEL PLOMO SOBRE LA HOMEOSTASIS INTRACELULAR DE CALCIO

Concentraciones de plomo de 5 a 25 mM en el medio de cultivo incrementan la concentración de calcio intracelular de 0.13 a 0.25 mM en células ROS 17/2.8. Se especuló que la toxicidad del plomo podía ser mediada por este efecto, pero en estudios posteriores se observó que este incremento de calcio causado por el plomo podría no ser uno de los mecanismos de daño a estas células. Esto es debido a que en la misma línea celular la hormona $1,25(OH)_2D_3$ a concentraciones fisiológicas incrementó la concentración de calcio intracelular a concentraciones muy semejantes (0.24 mM), sin causar daño a las células. Por otro lado, se observó en estos experimentos, que el plomo inhibe el incremento de calcio intracelular inducido por $1,25(OH)_2D_3$. Lo que sugiere que el plomo actúa inhibiendo la activación por $1,25(OH)_2D_3$ de los canales de calcio e

TABLA I

EFECTOS DE LA EXPOSICIÓN A PLOMO SOBRE LOS HUESOS Y SUS CÉLULAS

Estudios realizado en:	Tipo de alteración
Niños	- Retraso en el desarrollo de huesos y dientes (5) - Estatura y circunferencia torácica disminuida (5)
Rata y Hámster dorado	- Malformaciones esqueléticas en fetos (3, 4)
Perros	- Índices de formación ósea disminuidos (2)
Osteoclastos	- Estímulo e inhibición de actividad de resorción, dependiente de las características de exposición al metal (14, 15)
Osteoblastos	- Alteración en la homeostasis intracelular de calcio (14) - Inhibición de la producción de proteínas de la matriz ósea (14) - Inhibición de la producción de proteínas de la matriz ósea inducida por 1, 25$(OH)_2D_3$ (14) - Disminución en el influjo de calcio y concentración de IP_3 inducidos por EGF (14)

interfiriendo en la regulación por 1,25$(OH)_2D_3$ de la homeostasis de calcio en las células ROS17/2.8 (14). El papel que estos eventos juegan en la alteración del metabolismo óseo es aún incierto.

EL EFECTO DEL PLOMO SOBRE LA SÍNTESIS, SECRECIÓN Y FUNCIÓN DE PROTEÍNAS, PRODUCTO DE LOS OSTEOBLASTOS

Dentro de los mecanismos propuestos del daño por plomo al crecimiento de los huesos, se incluyen la disminución de la secreción de proteínas de la matriz extracelular. Una de estas proteínas es la osteocalcina, esta proteína es la más abundante del tipo no colágena en la matriz ósea. Esta proteína al unir al calcio, sirve como soporte para la formación de los cristales de hidroxiapatita. La osteocalcina puede alcanzar la circulación y su concentración en sangre es reflejo de su síntesis en el hueso, la cual se encuentra disminuida en el plasma de niños intoxicados con plomo (5).

La osteocalcina ve afectada de manera importante su síntesis y secreción estimulada por 1,25$(OH)_2D_3$ en presencia de plomo. Por otro lado el plomo afecta la función de esta proteína al unirsele, dificultando así la unión de calcio a la osteocalcina resultando en la inhibición de la formación de hidroxiapatita, lo cual puede repercutir de manera negativa en el proceso de mineralización(14).

Otra de las proteínas de la matriz ósea afectada por la exposición a plomo es la osteonectina, cuya secreción y RNAm se encontraron reducidos por la presencia de plomo en el medio de cultivo en estudios con células ROS 17/2.8 (14). Se observó que concentraciones de plomo entre 2 y 200 mM causan una disminución de la concentración de RNAm de la fosfatasa alcalina y la procolágena tipo I (14). La secreción estimulada por la hormona 1,25$(OH)_2D_3$ e IGF-1 y basal de osteocalcina, así como la actividad de la fosfatasa alcalina en las células ROS 17/2.8, también fueron significa-tivamente reducidas por la adición de 1-10 mM de plomo al medio (14).

EL EFECTO DEL PLOMO SOBRE LA PROLIFERACIÓN DE LAS CÉLULAS ROS 17/2.8

Concentraciones de plomo entre 2 y 200 mM no tienen efecto sobre el número de células ROS 17/2.8, medido por el contenido de DNA en el cultivo. Sin embargo, el incremento en el contenido de DNA causado por la presencia de IGF-1 fue bloqueado de manera importante por la adición al medio de 1-10 mM de plomo (14). Al respecto se requiere de un mayor número de estudios que permitan concluir el efecto que tiene la exposición a plomo sobre la proliferación celular *in vitro* e *in vivo.*

EL EFECTO DEL PLOMO SOBRE LOS MECANISMOS DE TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES EN LAS CÉLULAS ROS 17/2.8

Se ha observado que el factor de crecimiento epidermal (EGF) causa un incremento en el influjo de calcio y acumulación intracelular de inositol 1,4,5 trifosfato (IP_3) en las células ROS 17/2.8. En presencia de plomo el incremento de calcio e IP_3 por efecto del EGF no se observa. Se sugiere que la proteína cinasa C (PKC) sea el modulador de estos efectos y que su actividad pueda estar alterada por la presencia de plomo (14). El efecto de plomo sobre la actividad de diferentes isoformas de PKC ya ha sido demostrado en varios estudios y no resultaría extraño descubrir que en las células ROS 17/2.8 se vea alterada la actividad de esta cinasa por efecto del plomo.

CONCLUSIÓN

Como puede apreciarse a lo largo de esta revisión, el hueso en un organismo intoxicado con plomo no sólo funciona como un órgano pasivo de acumulación

de este metal. Se han observado defectos en el sistema esquelético *in vivo*, así como alteraciones en la función de sus células *in vitro,* que sugieren que el hueso es susceptible a los efectos tóxicos del plomo y que podría resultar un órgano blanco durante la intoxicación con este metal. Se ha comprobado *in vitro* que el plomo es capaz de alterar la función de las células óseas y capaz también de modificar la función normal de algunas proteínas de matriz extracelular, como es el caso de la osteocalcina dentro del proceso de mineralización. Sin embargo, los resultados obtenidos de modelos *in vitro,* no pueden explicar de manera satisfactoria los fenómenos observados *in vivo* ni pueden extrapolarse a condiciones *in vivo.* Por lo que resulta indispensable el desarrollo de modelos *in vivo* para conocer los mecanismos de toxicidad involucrados en las alteraciones observadas en el sistema esquelético de organismos intoxicados con plomo. Esta necesidad apenas empieza a ser atendida con estudios realizados en algunos modelos *in vivo* y en cultivos de órganos.

El cambio de perspectiva con la que ahora se observa al hueso para su estudio en la intoxicación con plomo, permitirá alcanzar conocimientos que nos guíen en la búsqueda de estrategias tanto profilácticas como terapéuticas y de diagnóstico temprano, que ayuden a evitar o corregir los daños originados por plomo al hueso, considerándolo como uno más de los órganos susceptibles a los efectos tóxicos del plomo.

REFERENCIAS

1. Rabinowitz M O, Wetherill GW y Kopple J D (1976) Kinetic analysis of lead metabolism in healthy humans. J Clin Invest *58:* 260-270.

2. Anderson C y Danylchuk K D (1980) Haversian bone-remodeling rates in the beagle after cessation of exposure to chronic low doses of lead.J Environ Pathol Toxicol *3:* 413-422.

3. Ferm V H y Ferm D W (1971) The specificity of the teratogenic effect of lead in the golden hamster. Life Sci *10*: 35-39.

4. Mac Clain R M y Becker B A (1975) Teratogenicity, fetal toxicity, and placental transfer of lead nitrate in rats. Toxicol Appl Pharmacol *3:* 71-82.

5. Pounds J G, Long G J y Rosen J F (1991) Cellular and molecular toxicity of lead in bone. Exp Health Persp *91*: 17-32.

6. Moreno-Sánchez R y Devars S (1999) Abundancia de los metales pesados en la biosfera. En Contaminación Ambiental por Metales Pesados, Editor: AGT, S.A., México, D.F. pp 1-10.

7. Cortina-Ramírez G.E. (1999) Efecto de la administración de calcitriol y del incremento de calcio y fosfato en la dieta sobre la distribución de plomo durante el crecimiento. Tesis de Maestría CINVESTAV-IPN. pp 2-8.

8. DeMichele S J (1984) Nutrition of Lead. Comp Biochem Physiol 78A, *3:* 401-408.

9. Maldonado-Vega M, Cerbón-Solórzano J, Albores-Medina A, Hernández-Luna C y Calderón-Salinas J V (1997) Lead: intestinal absorption and bone mobilization during lactation. Hum Exp Toxicol *15*: 872-877

10. Andrew E y Rosenberg M D (1995) El sistema esquelético y los tumores de los tejidos blandos: Huesos. En Patología Estructural y Funcional. Editor: Mc. Graw-Hill Interamericana, España. pp 1331-1367.

11. Wittmers L E, Wallgren J, Alich A, Aufderheide A C y Rapp G (1988) Lead in Bone: IV. Distribution of lead in human skeleton. Arch Environ Health *43*: 381-390.

12. Marks S C Jr y Hermey D C (1996) The structure and development of bone. En Principles of Bone Biology. Editrores: Bilezikian J P, Raisz L G, Rodan G A . U.S.A. pp 3-14.

13. Owen T A, Aronow M, Shalhoub V, Barone L M, Wilming L, Tassinari M S, Kennedy M B, Pockwinse S, Lian J B, Stein G S (1990) Progressive development of the rat osteoblast phenotype *in vitro*: reciprocal relationships in expression of genes associated with osteoblast proliferation and differentiation during formation of the bone extracellular matrix. J Cell Physiol *143*:420-430.

14. Bronner F (1996) Metals in bone: Aluminum, Boron, Cadmium, Chromium, Lead, silicon, and Strontium. En Principles of Bone Biology. Editores: Bilezikian J P, Raisz L G, Rodan G A. U.S.A. pp 295-303.

15. Miyahara T, Komiyama H, Miyanishi A, Takata M, Nagai M, Kozuka H, Hayashi T, Yamamoto M, Ito Y, Odake H y Koizumi F (1995) Stimulative effects of lead on bone resorption in organ culture. Toxicology *97*: 191-197.

REB 21(4):258-265, 2002

LA LEVADURA ACUMULA TREHALOSA PARA PROTEGER PROTEÍNAS Y MEMBRANAS DURANTE EL ESTRÉS*

José G. Sampedro

RESUMEN

La síntesis y acumulación de trehalosa en la levadura está estrechamente relacionada con un aumento en la supervivencia de la célula a diferentes tipos de estrés como la deshidratación, el choque térmico, el estrés oxidativo y otros. La trehalosa aumenta la estabilidad de proteínas y membranas en estas condiciones. Durante la deshidratación, la trehalosa estabiliza estas moléculas por medio de la formación de una estructura vítrea amorfa y el establecimiento de puentes de hidrógeno con las cabezas polares de los fosfolípidos y los aminoácidos en la superficie de las proteínas. En el choque térmico, la trehalosa aumenta la estabilidad de las proteínas a través de la inhibición de los movimientos estructurales que llevan a la desnaturalización. La trehalosa es sintetizada en el citoplasma por el complejo de la trehalosa-6-fosfato sintetasa/fosfatasa (TPS) y se hidroliza a dos unidades de glucosa por la trehalasa neutral. El estudio de la estabilización de moléculas con actividad biológica ha sido un campo de interés por las aplicaciones potenciales en procesos industriales, principalmente en la industria farmacéutica y biotecnológica.

PALABRAS CLAVE: Choque térmico, deshidratación, respuesta al estrés, termoestabilización, proteínas, membranas.

ABSTRACT

In yeast cells, trehalose synthesis and accumulation is closely related to enhanced survival during stress conditions, namely dessication, heat-shock, oxidative stress and others. Trehalose increases protein and membrane stability during these adverse conditions. During dehydration, trehalose stabilizes these molecules by forming an amorphous glass structure and interacting through hydrogen bonds with polar phospholipid head groups and aminoacids at the protein surface. During heat-shock, trehalose increases protein stability against thermal denaturation through the inhibition of protein domain motions leading to denaturation. Trehalose is synthesised in the yeast cytoplasm by the trehalose-6-phosphate synthase/phosphatase complex (TPS) and hydrolyzed by neutral trehalase. Studies on the stabilization of biomolecules have potential applications on industrial processes, mainly in the pharmaceutical and biotechnological areas.

KEY WORDS: Stress response, heat-shock, dessication, oxidative stress, thermal stabilization, proteins, membranes.

INTRODUCCION

Las levaduras están expuestas a cambios drásticos en las condiciones del medio ambiente. Entre éstos, se encuentran la deshidratación, el aumento de la temperatura, el estrés oxidativo y la exposición a ácidos orgánicos y metales pesados (1). Estas condiciones afectan negativamente la viabilidad de las células, principalmente dañando las estructuras celulares tales como las proteínas, membranas y ácidos nucleicos. Sin embargo, las levaduras han desarrollado diferentes mecanismos que les permiten sobrevivir a estas condiciones (1,2). La síntesis y acumulación de trehalosa en el citoplasma forma parte de la respuesta de la célula al estrés. La trehalosa es un disacárido no reductor distribuido ampliamente en la naturaleza y que ha sido estudiado intensamente debido a la estrecha relación entre su acumulación y la resistencia celular al estrés (3).

Wiggers en 1832 detectó este disacárido por primera vez en un hongo que infecta las semillas de maíz en las mazorcas y lo llamó mutterkornzucker. Posteriormente, Mitscherlich, en 1858 sintetizó este azúcar en el laboratorio y lo llamó micosa (del griego hongo). Ese mismo año, Berthelot analizó el azúcar

*Recibido: 30 de agosto de 2002 Aceptado: 8 de octubre de 2002

Departamento de Bioquímica, Instituto de Fisiología Celular. Universidad Nacional Autónoma de México. Apartado Postal 70-242, 04510. México D.F. Tel. 5622-5632. Fax 5622-5630. Correo-E: jsamped@ifisiol.unam.mx

contenido en el capullo (denominado trehala) del escarabajo *Larinus maculata* y lo llamó trehalosa (3). Más adelante, Berthelot notó la similitud con la micosa, sin embargo, el nombre trehalosa prevaleció sobre el de micosa debido a que el registro del nombre trehala se remonta a 1681 en la *Farmacopea Persa* (3). Desde entonces la trehalosa se ha encontrado en diferentes organismos tales como plantas, crustáceos, nemátodos, insectos y levaduras, todos ellos capaces de sobrevivir a la deshidratación (anhidrobiosis) (2).

Inicialmente, por estudios llevados a cabo en hongos y levaduras se consideró a la trehalosa como una molécula de reserva, ya que las células en fase estacionaria y las esporas contienen una gran cantidad de este disacárido (15-20% de la masa celular seca) (1,2). Actualmente, se sabe que esta función la cumple totalmente el glucógeno (1). Adicionalmente, se sabe que la trehalosa es sintetizada al inicio de la fase estacionaria de crecimiento y se mantiene en la célula hasta que las condiciones del medio son favorables (1), por lo que la función de la trehalosa como carbohidrato de reserva carece de apoyo. Sin embargo, alternativamente se propuso a la trehalosa como un agente protector contra el estrés por deshidratación (2); pocos años después se amplió este papel al choque térmico (1) y más recientemente al estrés oxidativo (4). Adicionalmente, se han reportado nuevos efectos de la trehalosa enfocados a explicar la rápida movilización de la trehalosa después del periodo de estrés (5,6).

LA TREHALOSA Y LA ESTABILIZACIÓN DE MACROMOLECULAS DURANTE EL ESTRÉS

Wiemken (1) propuso que bajo condiciones de estrés, en el citoplasma de la célula, la trehalosa funciona como un agente protector encargado de mantener la integridad estructural y funcional de los componentes celulares. En la levadura, la estructura y función de las membranas y proteínas se afectan de diferente manera dependiendo del tipo de estrés (1-4), por lo que el mecanismo de estabilización de la trehalosa varía de acuerdo al efecto específico de cada condición.

a) Deshidratación.

La viabilidad de las células de levadura, en fase logarítmica de crecimiento, disminuye dramáticamente por la deshidratación (7-8). Se ha observado que la remoción del agua del interior de la célula produce la fusión de las membranas celulares y la pérdida de la integridad de la membrana plasmática (2). En consecuencia, durante el proceso de rehidratación se observa la liberación del contenido celular y se pueden encontrar la presencia de algunos iones, cofactores, nucleótidos, aminoácidos e intermediarios de las vías metabólicas en el medio de rehidratación (9). En contraste, estos eventos no se observan en la fase estacionaria de crecimiento (2). Sin embargo, si las células en fase logarítmica se someten a choque térmico (una condición que induce la acumulación de trehalosa) la integridad de la membrana plasmática y la viabilidad celular se mantienen intactas (10).

El estudio del papel de la trehalosa en la levadura durante la deshidratación se enfocó principalmente a la estabilización de liposomas y vesículas formadas con membranas plasmáticas aisladas (2,9). Se demostró que las membranas son estabilizadas por trehalosa a través de dos mecanismos diferentes: por la formación de una matriz amorfa de trehalosa denominada "vidrio" (glass) y por el establecimiento de puentes de hidrógeno con las cabezas polares de los fosfolípidos (11). Además, se demostró que la trehalosa se requiere a ambos lados de la membrana para una estabilización más eficiente. La matriz vítrea de trehalosa funciona principalmente como una barrera física que impide la fusión de las membranas, la difusión de metabolitos y los movimientos específicos de las proteínas involucrados en la catálisis, por lo que todos los procesos metabólicos se estacionan en esta condición (11). Por otro lado, la interacción de la trehalosa con la cabeza polar del fosfolípido funciona como un reemplazo de la capa de hidratación de los fosfolípidos. Adicionalmente, se ha observado que esta interacción trehalosa-fosfolípido disminuye la temperatura de transición T_m de la membrana plasmática de 60 a 40°C (9). A esta temperatura (40°C) se observa una permeabilidad transitoria, originada por el cambio de fase de los fosfolípidos, que permite la entrada del agua al citoplasma.

En las proteínas, la eliminación del agua de hidratación lleva a la pérdida de la conformación nativa (desnaturalización) y a la agregación (12). Estudios llevados a cabo con las enzimas fosfofructocinasa y lactato deshidrogenasa demostraron el papel estabilizador de la trehalosa sobre las proteínas durante la deshidratación (1). Los espectros de Infra Rojo (IR) mostraron el mecanismo de estabilización de proteínas por trehalosa a través del reemplazamiento de la capa de hidratación de las proteínas (12). Más recientemente, se ha reportado que bajo esta condición la matriz formada por la trehalosa impide los cambios conformacionales de las proteínas. Este último efecto, a nivel de movimientos de dominios en enzimas, da como resultado la inhibición de la función catalítica (13).

La concentración de trehalosa mínima para aumentar la viabilidad de las levaduras a la deshidratación es de 120 mM y la necesaria para un 100 % de sobrevivencia es de 500 mM (7).

Actualmente, en la anhidrobiosis se sabe que, aunque es claro el papel estabilizador de la trehalosa en las membranas, no es el único agente protector, ya que se ha reportado que algunas proteínas de choque térmico (como Hsp12) participan en la estabilización de la membrana plasmática durante esta condición (14).

b) Choque térmico.

El aumento de la temperatura del medio induce los siguientes efectos en la célula de levadura: i) la desnaturalización de proteínas, ii) un aumento en la permeabilidad de la membrana plasmática, iii) la disipación del gradiente de protones, necesario para el transporte secundario y iv) la acidificación del citoplasma (1,3,15). El choque térmico, en levaduras en fase logarítmica de crecimiento, induce una rápida síntesis y acumulación de trehalosa en el citoplasma (0.5M) (8). Esta respuesta inmediata se debe principalmente a que el complejo de la trehalosa sintetasa/fosfatasa es constitutivo (Tabla I) y a que las enzimas se activan por calor (Tabla II). Este incremento en la concentración de trehalosa en el citoplasma de las células correlaciona con un aumento en la termotolerancia, la capacidad de sobrevivir un determinado lapso de tiempo (5-10 min) a 50-52°C (8). Por esto, se ha propuesto que el papel de la trehalosa durante el choque térmico es la de un agente termoestabilizador altamente eficiente de las estructuras celulares, principalmente de proteínas (1,16). Esta propuesta correlaciona con el hecho de que las células en fase estacionaria, al igual que las esporas, poseen altas concentraciones de trehalosa y son termotolerantes (1).

Experimentos llevados a cabo *in vitro* han mostrado que la trehalosa es capaz de estabilizar algunas enzimas de levaduras contra la termoinactivación (16,17). Algunas enzimas citoplásmicas (pirofosfatasa y glucosa-6-P deshidrogenasa), y de membrana (H^+-ATPasa de la membrana plasmática) son completamente estabilizadas por concentraciones fisiológicas de trehalosa (16,17). La trehalosa actúa impidiendo el aumento por temperatura de las constantes de velocidad de inactivación (17) (Fig. 1), vía la inhibición de los movimientos estructurales que llevan a la desnaturalización (18). En la H^+-ATPasa especialmente, el rango de temperatura en donde se observa la protección por trehalosa (0.5 M) correlaciona con las temperaturas en donde ésta se sintetiza y acumula (17). Recientemente, Singer y Lindquist (1998) demostraron *in vivo* la termoestabilización de la luciferasa de luciérnaga y de bacteria por trehalosa (5). Sin embargo, actualmente se desconocen las proteínas blanco de la estabilización por trehalosa.

El papel de la trehalosa en la termotolerancia de la célula ha sido materia de gran debate, debido a que durante el estrés por calor también se sintetizan proteínas de choque térmico (Hsp). Se ha reportado que la síntesis de la Hsp104 es importante en las células para aumentar la sobrevivencia a altas temperaturas (19) y para la recuperación después del estrés (5). En contraste, también se ha reportado que las células en presencia de cicloheximida son capaces de adquirir la termotolerancia mediante la acumulación de trehalosa (16). Recientemente, se propuso un mecanismo coordinado, donde la trehalosa estabiliza las proteínas y las Hsp reactivan aquellas que llegaron a desnaturalizarse (3,5).

Durante el choque térmico las células mutantes carentes de trehalasa neutral (Nth1p) acumulan grandes cantidades de trehalosa que no son eliminadas del citoplasma después del período de estrés. Estas células son incapaces de reasumir su metabolismo, recuperarse y multiplicarse(20); éste sería un resultado contradictorio si se asume que la acumulación de trehalosa está dirigida a aumentar la resistencia de las células al estrés (1,3). Para explicar esto, se ha sugerido que

TABLA I

COMPLEJO TREHALOSA SINTETASA/FOSFATASA (TPS)

Descripción	αα-trehalosa-6-fosfato sintetasa/fosfatasa
Número E.C.	2.4.1.15
Subunidades	Tres o cuatro polipéptidos: Tps1p (56 kDa), Tps2p (102 kDa), Tps3p (115 kDa) o Tsl1p (123 kDa). La alternancia de estas dos últimas subunidades parece tener un papel regulatorio
Peso Molecular	630 a 800 kDa
Localización	Citoplasma
Características	Se reprime por glucosa e induce por galactosa. Esencial para crecer con glucosa o fructosa. Se induce por choque térmico, osmótico ú oxidativo. Activada por fructosa-6-P. Se fosforila por proteína-cinasas dependientes de AMPc. La forma fosforilada es menos activa, aún cuando es tres veces más activa a 40°C que a 30°C.

TABLA II
SUBUNIDADES DEL COMPLEJO DE LA TREHALOSA SINTETASA/FOSFATASA

Subunidad	Tps1p (56 kDa). Gen *TPS1*. Disrupción: Letal.
Fenotipo	Las mutantes no acumulan trehalosa, poca viabilidad en choque térmico, no crecen en glucosa y las esporas no germinan en glucosa.
Transcripción	Inducida por estrés. El promotor contiene el elemento CCCCT (STRE, Stress Responsive Element).
Función	Condensa la UDP-glucosa con glucosa-6-P para formar trehalosa-6-P y UDP
Interacción	Con Tps1p, Tps2p, Tps3p, Tsl1p y Hxk2p. La mutante nula en *HXK2* restablece el crecimiento en glucosa en la mutante *TPS1*.
Subunidad	Tps2p (102 kDa). Gen *TPS2*. Disrupción: Viable
Fenotipo	Las mutantes acumulan trehalosa-6-P, pero no trehalosa en la fase estacionaria y choque térmico sensibles a la temperatura y crecen lentamente en glicerol.
Transcripción	El promotor contiene cuatro copias STRE. La mutación de Msn2p disminuye la inducción por estrés y la sobre-expresión de Msn2p aumenta el nivel de ARNm.
Función	Hidroliza la trehalosa-6-P liberando trehalosa y Pi.
Interacción	Con Tps1p, Tps2p, Tps3p, Tsl1p, Yar066wp y Sbh2p.
Subunidad	Tps3p (115 kDa). Gen TPS3. Disrupción: Viable.
Fenotipo	La actividad Trehalosa-6-fosfato sintetasa disminuye en la doble mutante *TPS3-TSL1*.
Función	Regula la síntesis de trehalosa en el complejo TPS. Tps3p y Tsl1p comparten este papel.
Interacción	Con Tps1p, Tps2p, Tps3p y Tsl1p.
Subunidad	Tsl1p (123 kDa). Gen *TSL1*. Disrupción: Viable.
Fenotipo	La mutante nula de *TSL1* no tiene un fenotipo evidente.
Transcripción	El promotor contiene el elemento de regulación por estrés CCCCT (STRE).
Función	Estabiliza el complejo TPS y comparte la función regulatoria con Tps3p. Confiere la sensibilidad a P_i y fructosa-6-fosfato.
Interacción	Con Tps1p, Tps2p, Tps3p y Tsl1p.

en ausencia de estrés, una elevada concentración de trehalosa citoplásmica de las células es incompatible con ciertos procesos bioquímicos (20,3). Se ha reportado que la presencia de trehalosa en el citoplasma interfiere con la actividad de la Hsp104, impidiendo la reactivación de proteínas desnaturalizadas (5). Recientemente, se ha demostrado que la presencia de trehalosa interfiere con la actividad catalítica de las enzimas a bajas temperaturas, a través de la inhibición de cambios conformacionales específicos durante el ciclo catalítico (6). En resúmen, la hidrólisis de trehalosa es un requisito previo para la recuperación post-estrés y para reasumir el metabolismo celular.

c) Estrés oxidativo.

En el metabolismo normal de la levadura se producen las especies de oxígeno reactivas (ROS), tales como el peróxido de hidrógeno, el anión superóxido y el radical hidroxilo (1). Las células cuentan con diferentes mecanismos para evitar el daño por ROS, por ejemplo: se sintetizan proteínas como la tioredoxina, la catalasa y la superóxido dismutasa, y moléculas como el glutatión. Sin embargo, en algunas condiciones (radiación ionizante, luz ultravioleta y choque térmico), la concentración de ROS puede sobrepasar la capacidad de respuesta de la célula y disminuir drásticamente la viabilidad (10). Se sabe que los ROS afectan algunos componentes celulares tales como proteínas, membranas y ADN. En las proteínas, se observa la modificación de las cadenas laterales de los aminoácidos, la formación de enlaces covalentes entre cadenas laterales y la fragmentación de la cadena polipeptídica. En las membranas, se produce lipoperoxidación. En el ADN, se lleva a cabo la modificación de las bases y de la desoxirribosa y se rompe la cadena nucleotídica (4).

En levaduras, se ha reportado la acumulación de trehalosa durante la exposición a bajas concentraciones de peróxido de hidrógeno, seguida de un aumento en la resistencia a dosis letales (10). Recientemente, se reportó la protección de proteínas por trehalosa *in vivo* contra el daño por ROS (4). La trehalosa disminuye la formación de grupos carboxilo en las proteínas inducida por un sistema generador de ROS (H_2O_2/Fe^{3+}). En este estudio se sugirió que la trehalosa actúa como un agente secuestrador de ROS, de forma similar al manitol (4). Adicionalmente, se sabe que los factores de transcripción involucrados en la expresión de Tps2 (Tabla II), participan también en la expresión de la catalasa y la superóxido dismutasa durante el choque térmico y el estrés oxidativo (21). Se presume que la trehalosa actúa *in vivo* en coordinación con las enzimas catalasa, superóxido dismutasa y peroxidasas para proteger a la célula de levadura contra el daño por ROS (4). Se ha sugerido que la acumulación de trehalosa po-

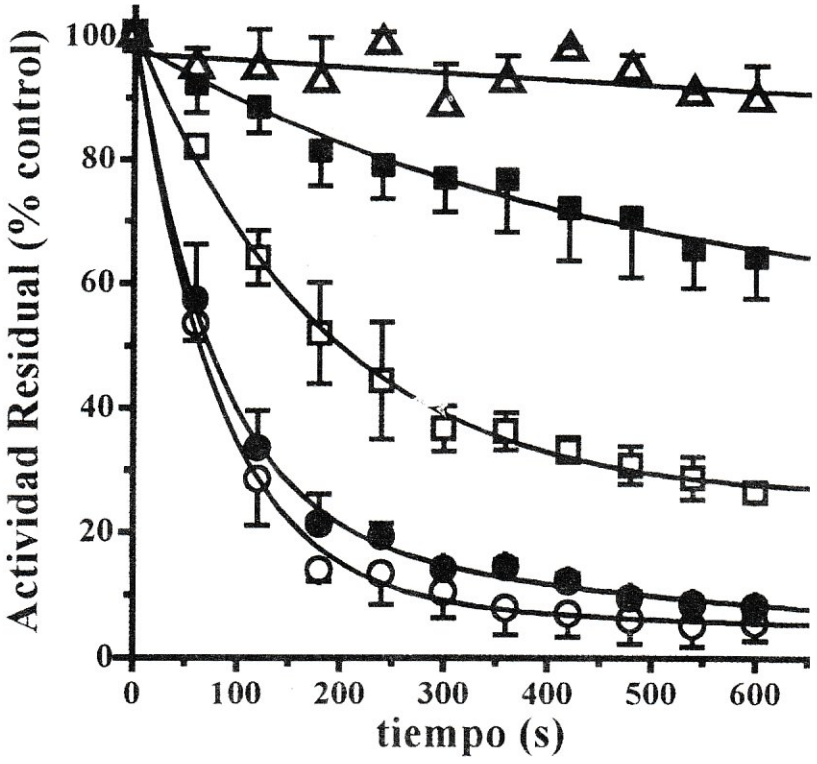


Figura 1. *Termoestabilización por trehalosa de la H⁺-ATPasa de la membrana plasmática de Kluyveromyces lactis. Se muestra el curso temporal de la pérdida de actividad de la enzima durante la incubación a 40°C en presencia de diferentes concentraciones de trehalosa. Trehalosa (M): ○ 0, ● 0.1, □ 0.2, ■ 0.4 y △ 0.6. Las líneas continuas son el resultado del ajuste por regresión no lineal a un decaimiento bifásico.*

dría ser particularmente importante en los microorganismos patógenos, donde la trehalosa funcionaría como un mecanismo de resistencia contra los radicales libres generados en el fagosoma de los macrófagos y neutrófilos (4).

SÍNTESIS Y DEGRADACIÓN DE TREHALOSA

La trehalosa (D-glucopiranosil α D-glucopiranósido) es un disacárido no reductor formado por dos moléculas de glucosa unidas por enlaces αα 1-1. La levadura *Saccharomyces cerevisiae*, en condiciones óptimas de crecimiento acumula trehalosa en la fase estacionaria y en las esporas degradándola rápidamente cuando se inicia un nuevo ciclo de cultivo (1,3). Sin embargo, en condiciones de estrés como el choque térmico, la trehalosa puede acumularse rápidamente en la fase logarítmica alcanzando una concentración de 0.5 M (8,10).

La trehalosa es sintetizada por un complejo multienzimático localizado en el citoplasma, denominado trehalosa-6-fosfato sintetasa/fosfatasa y que tiene un PM de 630~800 kDa. Este complejo se encuentra presente siempre, es decir se expresa constitutivamente (Tabla I) (21). Este complejo está constituido por la trehalosa-6-P sintetasa (Tps1p), por la trehalosa-6-P fosfatasa (Tps2p), y por dos subunidades reguladoras (Tsl1p y Tps3p) (3). La actividad enzimática de Tps1p y Tps2p, así como la inducción de los genes respectivos aumentan en respuesta al estrés (Tabla I y II). La trehalosa se sintetiza en dos pasos consecutivos (Fig. 2): en la primera reacción, catalizada por Tps1p, se condensa la glucosa-6-fosfato con la UDP-glucosa para formar trehalosa-6-fosfato. En la segunda reacción, catalizada por Tps2p, se lleva a cabo la hidrólisis del grupo fosfato para formar trehalosa. En las fases de crecimiento, la síntesis de trehalosa está regulada por fosforilación de las subunidades Tps3p y Tsl1p catalizada por proteínas cinasas dependientes de AMPc (Tabla II). Durante el choque térmico las enzimas se activan por temperatura y se induce la transcripción de los genes por medio de un elemento STRE (Stress Responsive Element) (Tabla II) (1, 3, 21).

Las mutantes nulas en *TPS1* son incapaces de crecer en medios con glucosa como única fuente de carbono (3). Estas mutantes acumulan grandes cantidades de glucosa-6-P consumiendo el ATP y Pi necesario para otras funciones. Para explicar este fenómeno, se ha propuesto la regulación de la hexocinasa por la trehalosa-6-fosfato y el amortiguamiento de la glucosa celular vía la síntesis e hidrólisis de trehalosa (ciclo fútil) (21). Por otro lado, las células mutantes en *TPS2* son capaces de crecer con glucosa, pero acumulan grandes cantidades de trehalosa-6-fosfato en las condiciones donde se acumula trehalosa (3, 21).

En el citoplasma, la eliminación de la trehalosa es llevada a cabo principalmente por la enzima trehalasa neutra (Nth1p) (Tabla III) (3, 20). Nth1p cataliza la hidrólisis de la trehalosa a dos moléculas de glucosa a un pH óptimo de 7.0 (1, 3) (Fig. 3). La actividad de esta enzima está regulada por fosforilación por proteínas cinasas dependientes de AMPc. Esta enzima se encuentra presente constitutivamente, sin embargo su síntesis aumenta durante

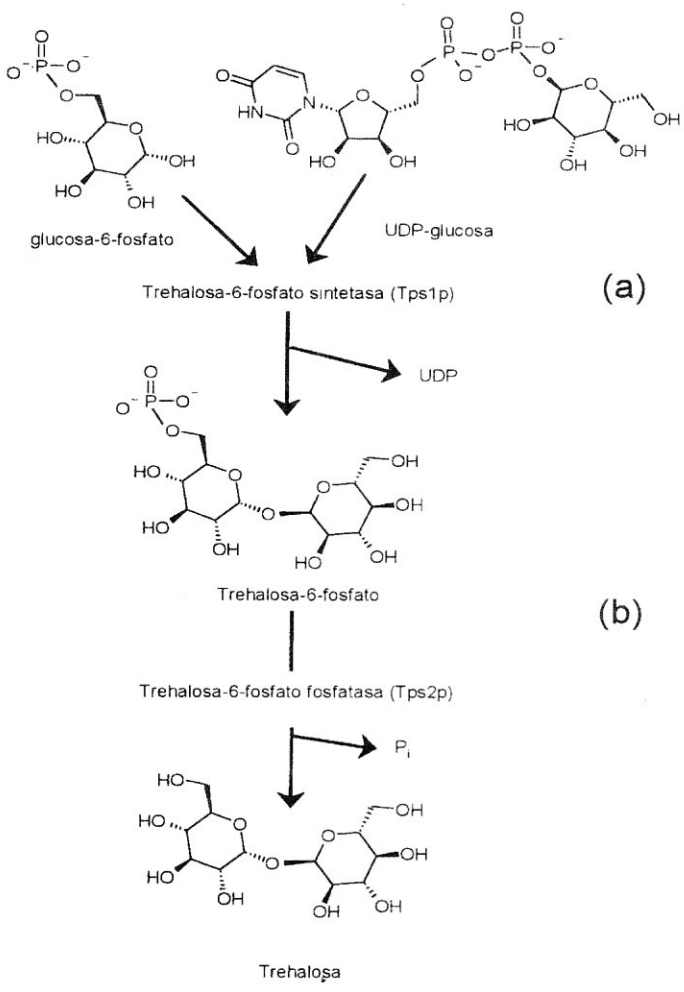


Figura 2. *Vía de biosíntesis de trehalosa. La trehalosa es sintetizada por el complejo TPS (trehalosa-6-P sintetasa/fosfatasa) en dos reacciones consecutivas. En la primera reacción (a), catalizada por Tps1p, se condensa la glucosa-6-fosfato con UDP-glucosa para formar trehalosa-6-fosfato. En la segunda reacción (b), catalizada por Tps2p, se hidroliza la trehalosa-6-P liberando trehalosa y Pi.*

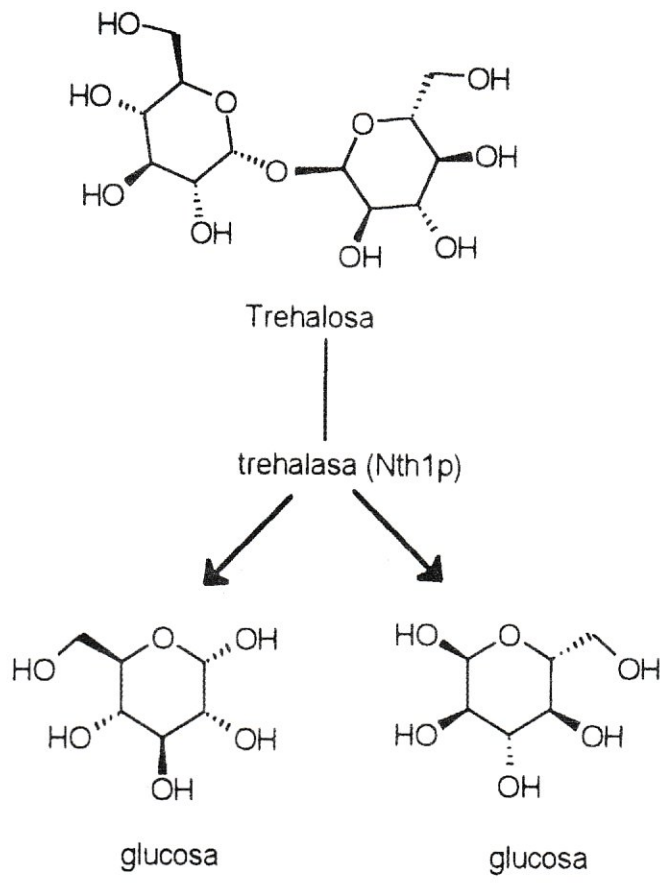


Figura 3. *Vía de degradación de trehalosa. La trehalosa acumulada en fase estacionaria y durante el estrés es hidrolizada a dos moléculas de glucosa por la enzima trehalasa neutra (Nth1p). Esta reacción también es catalizada por la trehalasa neutra 2 (Nth2p) y por la trehalasa ácida (Ath1p).*

condiciones de estrés (3). Las células mutantes en *NTH1*, después del evento de estrés, son incapaces de remover la trehalosa del citoplasma y no pueden reasumir su metabolismo y multiplicarse (20). La trehalasa neutral 2 (Nth2p) se ubica en el citoplasma y responde al estrés de manera similar a Nth1p (Tabla III). Sin embargo, su función en la célula se desconoce actualmente, ya que la disrupción del gen *NTH2* no tiene un efecto aparente en la acumulación ni en la hidrólisis de la trehalosa (3). La trehalasa ácida (Ath1p, actividad máxima a pH 4.5), está involucrada en la utilización de trehalosa como fuente de carbono, se localiza en la vacuola y no responde al estrés (3). Las mutantes en *ATH1* son incapaces de utilizar la trehalosa como fuente de carbono (Tabla III).

TABLA III

ENZIMAS INVOLUCRADAS EN LA DEGRADACIÓN DE LA TREHALOSA

Trehalasa neutral 1	Nth1p (85 kDa, homodímero). Gen NTH1. Disrupción Viable
Fenotipo	La mutante nula no hidroliza trehalosa. La doble mutante ATH1 y NTH1 crece lentamente
Transcripción	El promotor contiene el elemento regulado por estrés CCCCT (STRE).
Función	Hidrólisis de trehalosa a glucosa. Activada por proteína cinasas dependientes de AMPc. En fase logarítmica hay alta actividad que se pierde en 95% al entrar en fase estacionaria, apareciendo la forma no fosforilada. La trehalasa aumenta al inicio de la germinación en las esporas. Tiene un pH óptimo de 7.0.
Localización	Citoplasma.
Trehalasa neutral 2	Nth2p (89 kDa). Gen NTH2. Disrupción Viable.
Fenotipo	La mutante nula no afecta la actividad de hidrólisis de trehalosa.
Transcripción	El promotor contiene el elemento regulado por estrés CCCCT (STRE).
Función	Hidrólisis de trehalosa a glucosa.
Localización	Citoplasma
Trehalasa ácida	Ath1 (136 kDa, glicosilada). Gen ATH1. Disrupción Viable.
Fenotipo	La mutante nula no presenta actividad de trehalasa y no puede crecer con trehalosa como fuente de carbono.
Transcripción	ATH1 se induce durante la fase exponencial de crecimiento en presencia de trehalosa como fuente de carbonoen glucosa.
Función	Utilización de la trehalosa como fuente de carbono. En fase estacionaria se presenta alta actividad. Tiene su máxima actividad a pH de 4.5.
Localización	Vacuola.

CONCLUSIONES

La estabilización de estructuras celulares por trehalosa ha sido materia de una intensa investigación en la última década. El estudio de los mecanismos de estabilización a nivel molecular, así como la regulación de la síntesis e hidrólisis de la trehalosa han permitido comprender el papel de este disacárido en la célula de levadura. Además, continúan apareciendo reportes en la literatura sobre nuevos efectos de este disacárido tanto *in vivo* como *in vitro*, por lo que es probable que el campo de estudio, así como el de las aplicaciones se amplíen en el corto plazo. El gran interés en esta molécula radica también en el gran potencial de aplicación comercial e industrial.

AGRADECIMIENTOS

Parcialmente apoyado por los donativos CONACyT (27568-N y 124978) y DGAPA-UNAM (IN-207600). Se agradecen los comentarios y sugerencias del Dr Salvador Uribe y del pasante de Dr. Jesús A. Oria-Hernández.

REFERENCIAS

1. Wiemken A (1990) Trehalose in yeast, stress protectant rather than reserve carbohydrate. Antonie van Leeuwenhoek Int J Gen Mol Microbiol *58*:209–217.

2. Crowe JH, Hoekstra FA y Crowe LM (1992) Anhydrobiosis. Annu Rev Physiol *54*:579–599.

3. Singer MA y Lindquist S (1998) Thermotolerance

in *Saccharomyces cerevisiae*: the Yin and Yang of trehalose. Trends Biotechnol *16*:460-468.

4. Benaroudj N, Lee DH y Goldberg AL (2001) Trehalose accumulation during cellular stress protects cells and cellular proteins from damage by oxygen radicals. J Biol Chem *276*:24261-24267.

5. Singer MA y Lindquist S (1998) Multiple effects of trehalose on protein *folding in vitro* and *in vivo*. Mol Cell *1*: 639-648.

6. Sampedro JG, Muñoz-Clares RA y Uribe S (2002) Trehalose mediated inhibition of the plasma membrane H^+-ATPase from *Kluyveromyces lactis*. Viscosity and temperature dependence. J Bacteriol *184*:4384-4391.

7. Gadd GM, Chalmers K y Reed RH (1987) The role of trehalose in dehydration resistance of *Saccharomyces cerevisiae*. FEMS Microbiol Lett *48*:249-254.

8. Hottiger T, Boller T y Wiemken A (1987) Rapid changes of heat and desiccation tolerance correlated with changes of trehalose content in *Saccharomyces cerevisiae* cells subjected to temperature shifts. FEBS Lett *220*:113-115.

9. Leslie SB, Teter SA, Crowe LM y Crowe JH (1994) Trehalose lowers membrane phase transitions in dry yeast cells. Biochim Biophys Acta *1192*:7-13.

10. Attfield PV (1987) Trehalose accumulates in Saccharomyces cerevisiae during exposure to agents that induce heat shock response. FEBS Lett *225*:259-263.

11. Crowe JH, Crowe LM, Oliver AE, Tsvetkova N, Wolkers W y Tablin F (2001) The trehalose myth revisited: introduction to a symposium on stabilization of cells in the dry state. Cryobiology *43*:89-105.

12. Carpenter JF y Crowe JH (1989) An infrared spectroscopic study of the interactions of carbohydrates with dried proteins. Biochemistry *28*:3916-22.

13. Hagen SJ, Hofrichter J e Eaton WA (1995) Protein reaction kinetics in a room-temperature glass. Science *269*:959-62.

14. Sales K, Brandt W, Rumbak E, Lindsey G. (2000) The LEA-like protein HSP 12 in *Saccharomyces cerevisiae* has a plasma membrane location and protects membranes against desiccation and ethanol-induced stress. Biochim Biophys Acta *1463*:267-278.

15. Coote PJ, Jones MV, Seymour IJ, Rowe DL, Ferdinando DP, McArthur AJ y Cole MB (1994) Activity of the plasma membrane H^+-ATPase is a key physiological determinant of thermotolerance in *Saccharomyces cerevisiae*. Microbiology *140*:1881-1890.

16. Hottiger T, De Virgilio C, Hall MN, Boller T y Wiemken A (1994) The role of trehalose synthesis for the acquisition of thermotolerance in yeast. II. Physiological concentrations of trehalose increase the thermal stability of proteins *in vitro*. Eur J Biochem *219*:187-193.

17. Sampedro JG, Cortés P, Muñoz-Clares RA, Fernandez A y Uribe S (2001) Thermal inactivation of the plasma membrane H^+-ATPase from *Kluyveromyces lactis*. Protection by trehalose. Biochim Biophys Acta *1544*:64-73.

18. Butler SL y Falke JJ (1996) Effects of protein stabilizing agents on thermal backbone motions: a disulfide trapping study. Biochemistry *35*:10595-600.

19. Sanchez Y y Lindquist SL (1990) HSP104 required for induced thermotolerance. Science *248*:1112-1115.

20. Wera S, De Schrijver E, Geyskens I, Nwaka S y Thevelein JM (1999) Opposite roles of trehalase activity in heat-shock recovery and heat-shock survival in *Saccharomyces cerevisiae*. Biochem J *343*:621-626.

21. Thevelein JM y Hohmann S (1995) Trehalose synthase: guard to the gate of glycolysis in yeast? Trends Biochem Sci *20*:3–10.

REB 21(4):266, 2002

PROBLEMA BIOQUÍMICO

Karla G. Carvajal Aguilera
Correo Electrónico: karla_ca@yahoo.com

TEMA: Producción y transferencia de energía en el corazón.

La función cardiaca depende del ATP obtenido por la oxidación de varios sustratos. En el corazón adulto, esta energía proviene del ATP generado a través de la fosforilación oxidativa (FO). Por esta razón el 99 % del oxígeno consumido por el órgano intacto corresponde al consumo mitocondrial de esta vía, el cual establece una relación directa con la actividad contráctil del miocardio, medida como desarrollo de presión ventricular, frecuencia y desempeño mecánico (1). Sin embargo, para que se lleve a cabo este acoplamiento entre el ATP producido por la FO y su utilización por la maquinaria contráctil, es necesario un sistema de transferencia directa del ATP mediado por el sistema de la creatina cinasa (2) (Fig. 1)

PREGUNTAS:

1. Determine el desempeño mecánico de corazones aislados de rata, cuando desarrollan una presión ventricular de 70 mm de Hg con una frecuencia cardiaca de 290 latidos/min.
2. Calcule la cantidad de ATP generado por el corazón para el cual la velocidad de consumo de oxígeno se ha determinado como 23.4 mM/min/ g de tejido fresco cuando se perfunde utilizando 10 mM de glucosa (3).
3. ¿Cuál es la velocidad de oxidación de glucosa en este mismo sistema?.
4. Bajo estas mismas circunstancias, Calcule la concentración de ADP libre existente cuando la concentración de ATP en estado estacionario es de 5.4 mM.
5. ¿Qué consecuencias tendrá una disminución en el consumo de oxígeno a niveles de 15 4 mM/min/ g de tejido sobre la producción y utilización de energía en el corazón de rata?. A esta velocidad la concentración de ATP en estado estacionario disminuye a 2.5 mM.

Las siguientes concentraciones de metabolitos han sido determinadas para el corazón de rata mediante técnicas de resonancia magnética nuclear con ^{31}P (4):PCr 12.2 mM

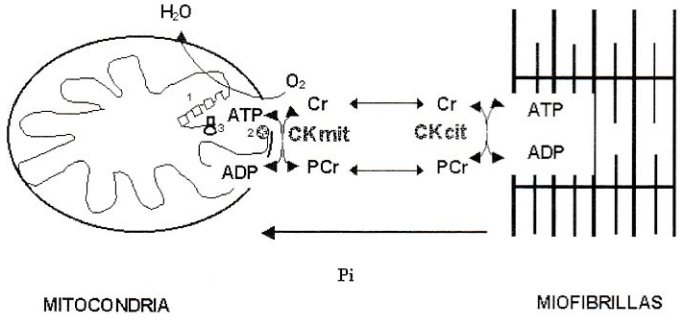


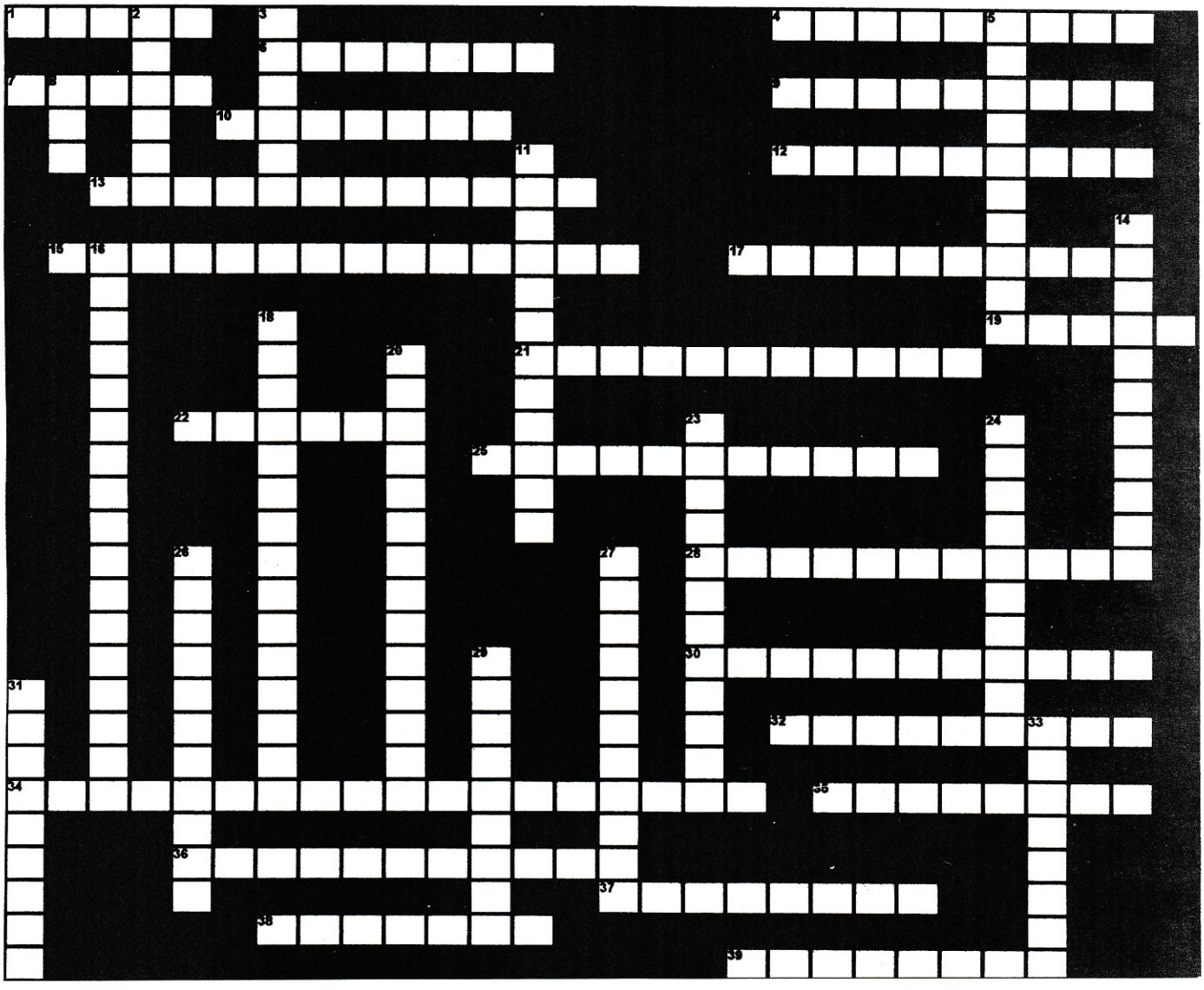
Fig. 1. Sistema de la creatina cinasa (CK) . El ATP generado en la mitocondria es transferido directamente hacia las miofibrillas por las isoformas citosólicas (CKcit) y mitocondrial (CKmit). 1. Complejos respiratorios, 2, ADP/ ATP translocasa, 3, ATP sintetasa. Creatina (Cr), fosfocreatina (PCr).

Creatina	23.7 mM
Mg^{2+} libre	1 mM
pH	7.2

Yolanda Saldaña Balmori

CRUCIBIOQ

SÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS



HORIZONTALES

1 Tipo de enlace que se forma con la salida de una molécula de agua, mediada por la beta-hidroxil-proteína transportadora de acilo deshidratasa.

4 Sólo a partir de esta molécula se puede sintetizar al ácido araquidónico entre otras.

6 Catalizan la hidrólisis de las grasas neutras.

7 Agente reductor, producido en la vía de los fosfatos de hexosa e indispensable en este proceso biosintético.

9 Ácido que se puede representar así: 18:2 (Δ 9,12).

10 Vitamina, coenzima que participa en la carboxilación de acetil coenzima A.

12 Célula con alta capacidad de almacenaje de triacilgliceroles.

13 Principales componentes de las membranas.

15 Por la acción de palmitoil coenzima A sobre la acetil coenzima A carboxilasa, ¿qué tipo de efector es?

17 Hormona que además del glucagón disminuye la síntesis de ácidos grasos.

19 Número de subunidades polipeptídicas que en bacterias forman el complejo llamado ácido graso sintasa.

21 Son dos, que en el proceso biosintético portan las formas activas de los metabolitos intermediarios.
22 Número de reacciones mediante las cuales se alarga en dos átomos de carbono un ácido graso.
25 Vía mediante la cual se sintetizan los ácidos grasos y los Triacílgliceroles.
28 Además de acetil coenzima A, es producto de la citrato liasa.
30 Característica de la membrana interna mitocondrial que impide la salida de acetil coenzima A por difusión.
32 Por la acción del citrato sobre la acetil coenzima A carboxilasa, ¿qué tipo de efector es?
34 Enzima que une malonil a la proteína transportadora de acilos.
35 Molécula que activada con coenzima A, es el sustrato alimentador de la biosíntesis de ácidos grasos.
36 Eicosanoide que inducen la constricción de los vasos sanguíneos y la agregación plaquetaria.
37 Analgésico y antiinflamatorio inhibidor de la prostaglandina endoperoxidasa.
38 Compartimento donde se realiza la síntesis de ácidos grasos.
39 En este proceso, los intermediarios están unidos a una proteína transportadora de acilos.

VERTICALES

2 Nutrimento que en que los organismos, almacenan la mayor parte de la energía.
3 Ácido graso insaturado más abundante en la grasa humana.
5 Por su limitación en la biosíntesis, así son los ácidos grasos poliinsaturados.
8 Proporciona la energía necesaria para la carboxilación de acetil coenzima A.
11 Reacción en la que el grupo malonilo se une al acetato y libera dióxido de carbono.
14 Vitamina, ácido, forma parte del grupo prostético de la proteína transportadora de acilo.
16 Sistema de biosíntesis de ácidos grasos cuyo producto es el palmitato.
18 Forma hidrófoba en la que se almacena el excedente energético en la célula.
20 Eicosanoide producido por una endoperóxido sintasa (ciclooxigenasa).
23 Se forman a partir de ácido araquidónico por la incorporación de oxígeno molecular mediante la lipooxigenasa.
24 Enzima que cataliza la formación de dobles enlaces en los ácidos grasos.
26 Molécula que dona el grupo carboxilo para la malonil coenzima A.
27 Acetil coenzima A _____, enzima que requiere como sustrato al bicarbonato.
29 Primer producto saturado por la elongación del palmitato.
31 Ácido graso saturado más abundante en la grasa humana (25%).
33 Enfermedad en la cual se aumenta la velocidad de oxidación de las grasas y la formación de cuerpos cetónicos.

RESPUESTA AL PROBLEMA BIOQUÍMICO

SOLUCIÓN:

1.El desempeño mecánico del corazón puede evaluarse a través del producto de la frecuencia cardiaca y la presión ventricular desarrollada, de esta forma, dicho producto para el corazón de rata es:

20300 mm Hg/ latidos /min

2.En mitocondrias aisladas de corazón de rata se ha determinado un coeficiente ADP/O de 2.5 el cual refleja de manera muy cercana la relación ATP/O, es decir, el número de moléculas sintetizadas de ATP por cada átomo de oxígeno consumido, cuando se utilizan sustratos relacionados con la producción de NADH como piruvato y 2-oxoglutarato. Dado que la oxidación de glucosa genera equivalentes reductores de la misma manera, podemos utilizar esta relación para calcular el ATP producido. Cuando el consumo de oxígeno es 23.4 mM/min/ g tenemos que se producen 58.5 mM de ATP /min/ g .

3.La oxidación total de la glucosa produce los siguientes equivalentes reductores:

Glucólsis	2 NADH
Piruvato deshidrogenasa	2 NADH
Ciclo de Krebs	6 NADH
	2 FADH

Asumiendo que por cada NADH se generan 2.5 moléculas de ATP en la FO y por cada FADH se generan 1.5, tenemos que en total la oxidación de 1 mol de glucosa genera 26 moles de ATP, ya que requiere de un consumo de 2 ATP por mol de glucosa; la velocidad de oxidación de glucosa es 2.25 mM/min/ g.

4.De acuerdo a la constante de equilibrio aparente para la reacción catalizada por la creatina cinasa con 1 mM de Mg^{2+} libre (5).

$$Kap = \frac{[ATP]\ [Cr]}{[ADP]\ [PCr][H^+]} = 1.66 \times 10^9 m^{-1}$$

La concentración de ADP en estado estacionario será: 100 mM.

5. Cuando el consumo de oxígeno disminuye a 15. 4 mM/min/ g, el ATP producido será de 38.5 mM/min/ g, el consumo de glucosa será de1.5 mM/min/ g. Al disminuir la producción de ATP, dado que el desempeño mecánico del corazón depende directamente de este suministro, éste se verá disminuido. De la misma manera la concentración de ADP libre disminuye a 43 mM, por lo que la FO disminuirá consecuentemente.

REFERENCIAS.

1. Moreno Sánchez R, Torres Márquez ME, Devars S. (1990). Oxidación de sustratos en el miocardio. Arch Inst Cardiol Mex. 60:587-591.

2. Walliman T. (1994). Dissecting the role of creatine kinase. Curr Biol. 1:42-46.

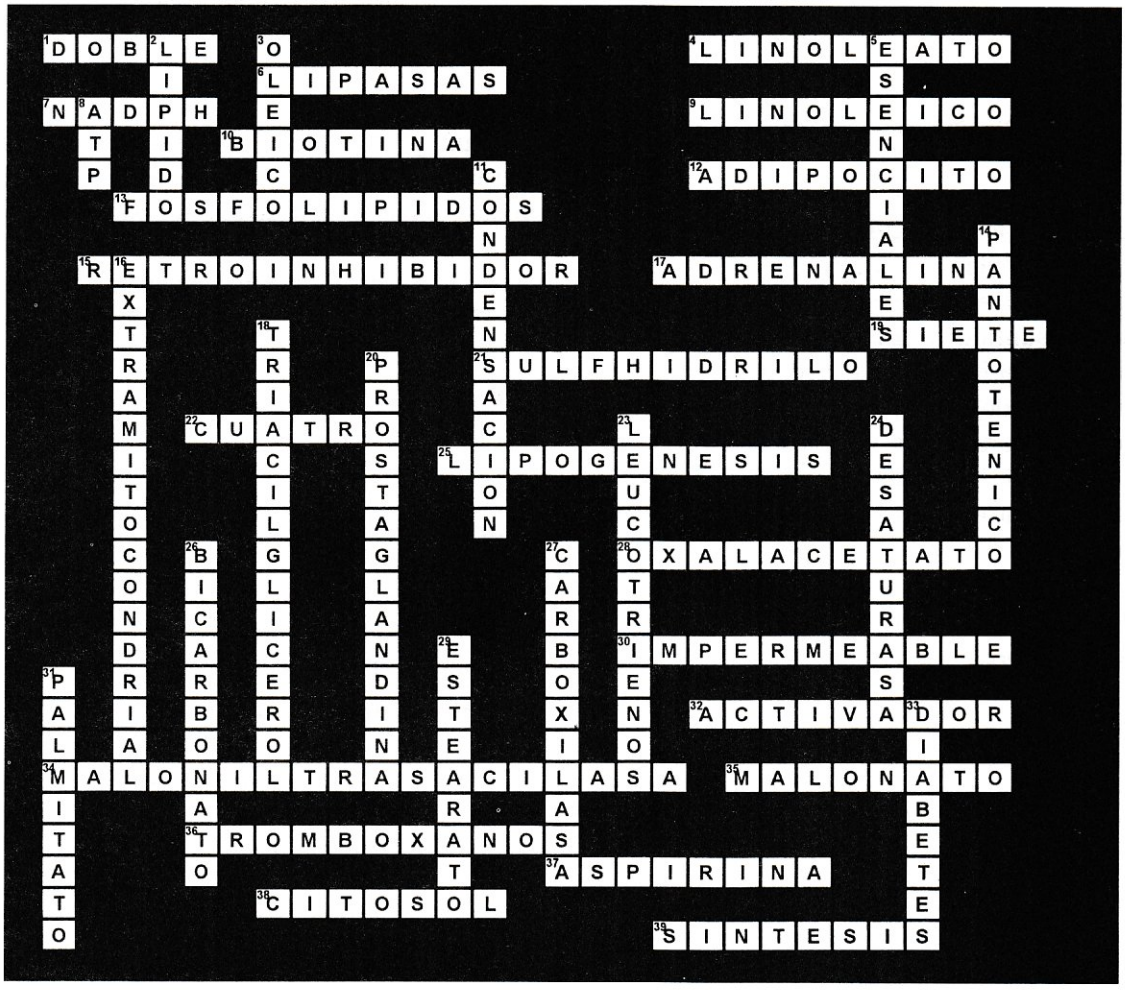
3. Carvajal K, Moreno Sánchez R. (2002). Impairment of glucose metabolism in the hypertriglyceridemic rat heart. Mol Cell Biochem. En prensa.

4. Dobson G, Himmelreich U. (2002). Heart design: free ADP scales with absolute mitochondrial and myofibrillar volumes from mouse to human. Biochem Biophys Acta. 1553:261-267.

5. Seymour AM. (1993). Evaluation of myocardial energy status in vivo by NMR spectroscopy. Basic Res Cardiol. 88:385-395.

REB *21*(4):270, 2002

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ
SÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS



INFORME DE LA SEMANA DE LA EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 2002

(XXIX TALLER DE ACTUALIZACION BIOQUÍMICA Y X CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A.C.)

La Semana de la Educación Bioquímica se realizó este año en la Cd. de México en las instalaciones de la UNAM, del 27 al 30 de agosto de 2002. El comité Organizador del Taller estuvo conformado por los doctores Alicia Cea Bonilla, I. Patricia del Arenal Mena, Héctor Riveros Rosas y Edgar Vázquez Contreras; el Comité Organizador del Congreso estuvo constituido por los doctores Alicia Cea Bonilla, Marco Antonio Juárez Oropeza y Patricia Torres Durán. Todos ellos son profesores del curso de Bioquímica y Biología Molecular que se imparte en el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM.

Se convocó a participar a profesores y estudiantes de Bioquímica y materias afines de diversas instituciones de Educación Media Superior y Superior de toda la República, mediante avisos en el Boletín de Educación Bioquímica y la Gaceta de la UNAM, así como a través de Internet, principalmente, mediante la creación de una página electrónica dedicada especialmente a promocionar y aportar información del evento (http://bq.unam.mx/%7Evazquez/tab), a la cual se accesa también a través de la página del Departamento de Bioquímica de la propia facultad.

Se inscribieron un total de 76 estudiosos de la Bioquímica: 56 profesores, 13 estudiantes de licenciatura y 7 estudiantes de posgrado. El número de asistentes de los diferentes estados fue el siguiente:

Baja California Norte	1
Chihuahua	3
Distrito Federal	51
Hidalgo	1
Jalisco	1
Nuevo León	1
Puebla	13
Sinaloa	1
Sonora	2
Veracruz	1
Yucatán	1

Adicionalmente, acudieron sin registrarse entre 20-50 profesores y/o estudiantes, quienes asistieron a las sesiones de su interés particular por alguna(s) conferencia(s) o en función de su disponibilidad de tiempo. Cabe señalar que para un tercio de los inscritos, éste fue el primer taller al que asistieron

El programa de la Semana de la Educación Bioquímica estuvo estructurado en tres tipos de sesiones: conferencias magistrales, en las que se revisaron temas de actualidad; trabajos sobre enseñanza que presentaron profesores dedicados principalmente a investigación docente y sesiones vespertinas teórico-prácticas, en la que se abordó la construcción de mapas conceptuales por computadora.

Los temas y ponentes del XXIX Taller de Actualización Bioquímica fueron los siguientes:

-La ingeniería genética y sus campos de aplicación: La biocatalisis y la industria química limpia. Xavier Soberón Mainero del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

-Biología de las especies de oxigeno reactivas. Wilhelm Hansberg Torres del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM.

-La saga del transportador de yodo: De la identificacion molecular a sus aplicaciones clinicas. Nancy Carrasco del Albert Einstein College of Medicine, New York.

-Enfermedades relacionadas al plegamiento anómalo de las proteínas. Alejandro Fernández Velasco de la Facultad de Medicina de la UNAM.

-Mecanismos moleculares de la patogenia viral: Estudios con el rubulavirus porcino. Julio Reyes Leyva del Centro de Investigación Biomédica de Oriente, Instituto Mexicano del Seguro Social.

-Simulación del reconocimiento entre proteínas y moléculas orgánicas o "docking". Aplicación al diseño de fármacos. Jacqueline Padilla Zúñiga y Arturo Rojo Domínguez, ambos de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa.

-Importancia de la biofísica en la morfogénesis de los hongos. Salomón Bartnicki García del Centro de Investigación Científica y de la Educación Superior de Ensenada, Baja California Norte.

-Imágenes del conocimiento. Manuel Aguilar Tamayo de la Red Mesoamericana de Recursos Bióticos con sede en la Universidad Autónoma del Estado de México.

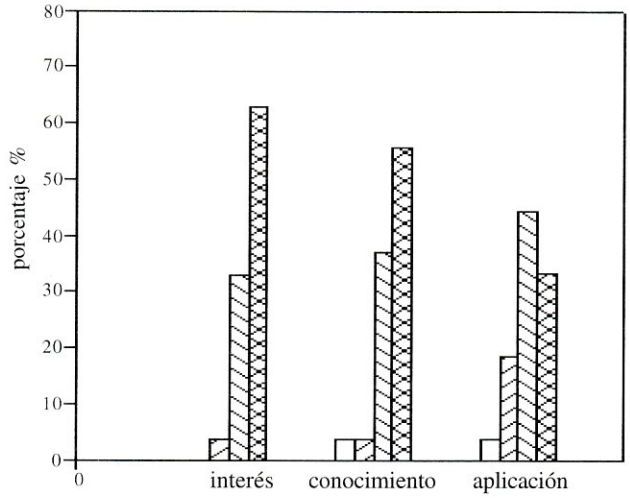
El tema de cada ponencia se redactó como una monografía para ser arbitrada por el Comité Editorial del Mensaje Bioquímico y posteriormente ser publicada en su volumen XXVI, que se distribuyó entre los inscritos a la Semana de la Educación Bioquímica. En este volumen se incluyó además el trabajo Edema cerebral: Mecanismos celulares de control. Dicho trabajo fue presentado durante el XXVIII Taller de Actualización Bioquimica por la doctora Herminia Pasantes, del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM.

Por otra parte, es importante mencionar que este año por primera vez se tiene una edición electrónica del Mensaje Bioquímico, la cual se podrá consultar libremente a través de la siguiente dirección de Internet: http://bq.unam.mx/mensajebioquímico Esto permitirá dar una mayor difusión al excelente trabajo que hicieron todos los ponentes y que se pone al alcance de un gran número de profesores y estudiantes, que podrán actualizar sus conocimientos a través de este medio. El 100% de los asistentes manifestaron interés por proyector a sus alumnos las conferencias del Taller, en caso de que éstas se grabaran en video.

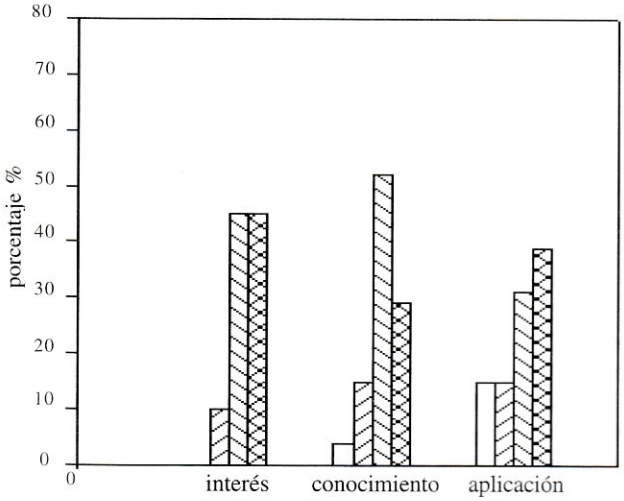
Como es costumbre en el Taller de Actualización Bioquímica se realizó una encuesta entre los asistentes para conocer, en forma más objetiva, los resultados de este evento. La opinión sobre interés, conocimiento y aplicabilidad de cada uno de los temas expuestos, se presenta en las siguientes gráficas:

Es importante señalar que más del 80% de los profesores asistentes utilizan el Mensaje Bioquímico para prepara sus clases y proporcionan a sus alumnos artículos del mismo como bibliografía. Además el 89% de los asistentes consideran que su participación en el Taller repercute positivamente en su formación personal y su práctica docente. El 11% restante, considera que esta repercusión es regular.

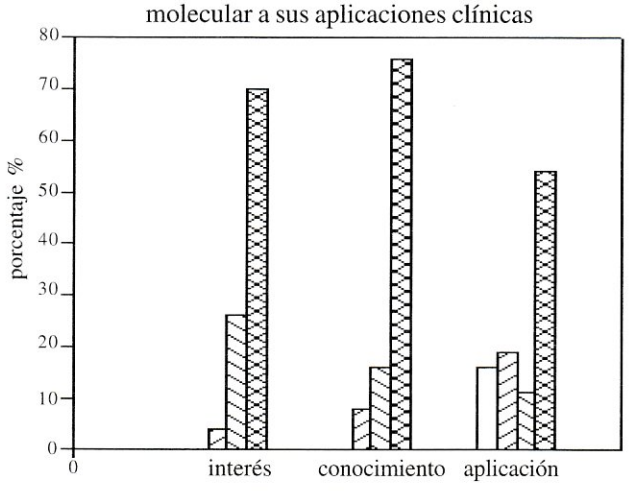
La ingeniería genética y sus campos de aplicación: la biocatálisis y la industria química limpia



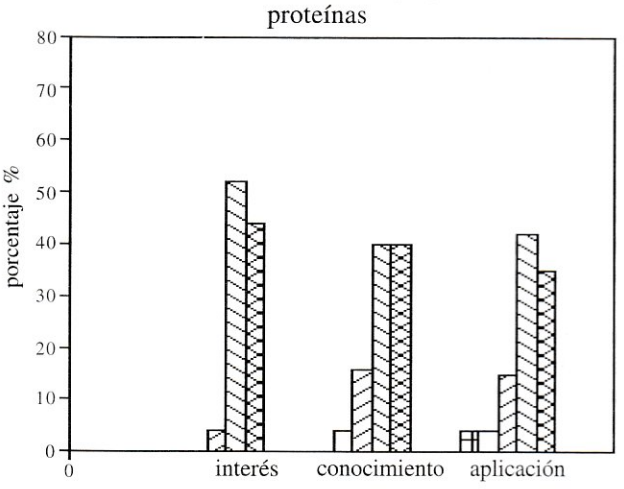
Biología de las especies de oxígeno reactivas



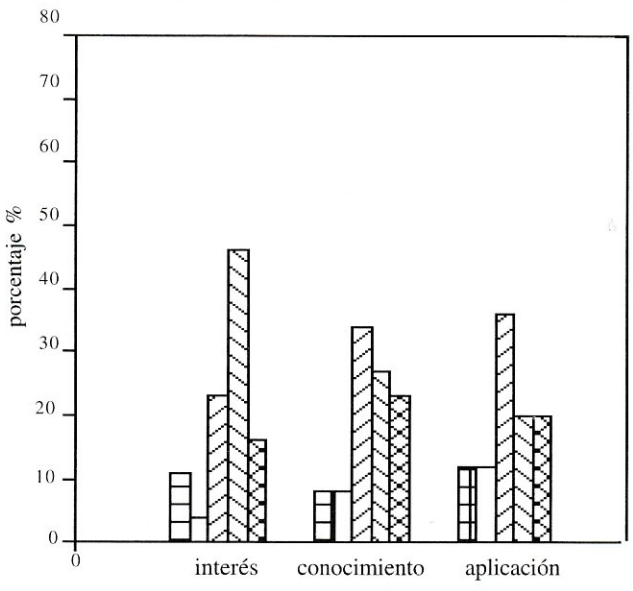
La saga de transportador de yodo de la identificación molecular a sus aplicaciones clínicas



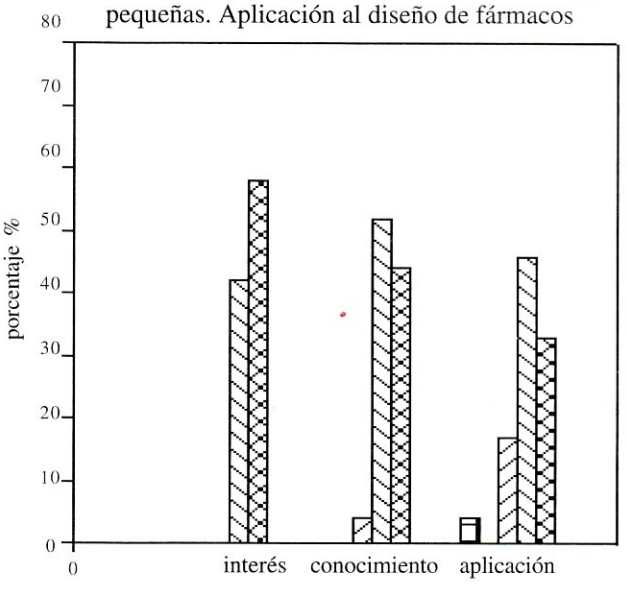
Enfermedades relacionas con el plegamiento de las proteínas



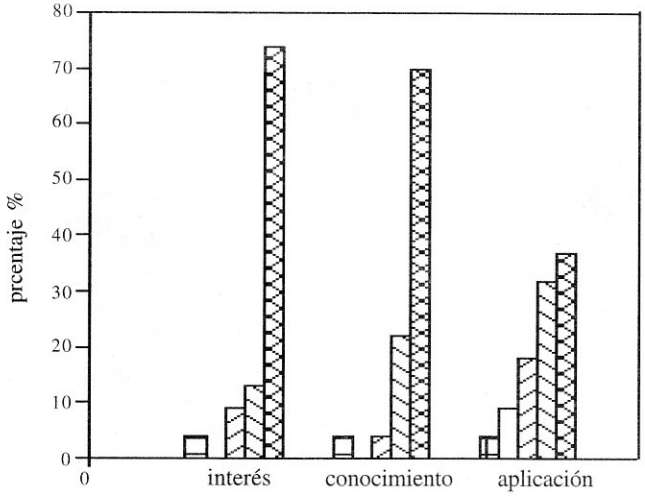
Mecanismos moleculares de la patogenia viral



Simulación del conocimiento entre proteínas y moléculas pequeñas. Aplicación al diseño de fármacos



Importancia de la biofisica en la morfogénesis de los hongos



Por lo que se refiere al taller teórico-práctico "IMÁGENES DEL CONOCIMIENTO" impartido por el Dr. Manuel Aguilar Tamayo, de la Red Mesoamericana de Recursos Bióticos con sede en la Universidad Autónoma del Estado de México, Mor., cabe mencionar que éste fue muy apreciado por su interés y aplicación por los participantes, quienes grabaron sus mapas conceptuales para posteriormente obtenerlo por Internet.

La sesión de ponencias del X Congreso de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C., en la que se presentaron los trabajos de investigación docente de diversos grupos de profesores. En ellos se abordaron temas referentes a :

-La salud mental del estudiante de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. Claudia Foulloux Morales de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México.

-Análisis de las calificaciones del curso de Bioquímica y Biología Molecular como indicadores del aprendizaje logrado por estudiantes de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. Yolanda Saldaña Balmori, Alicia Cea Bonilla, Ma. Dolores Ramírez González de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México; Héctor Javier Delgadillo de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco e Ignacio Méndez Ramírez del Instituto de Investigaciones en Matemáticas Aplicadas y en Sistemas, Universidad Nacional Autónoma de México.

-Adaptación de una estrategia para el aprendizaje de las ciencias básicas en los estudios de licenciatura de la Facultad de Medicina. Irma Zarco de Coronado de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México.

-Los cybercafés: Opción democratizadora del uso de la tecnología para la educación superior a distancia. Angel Torres Velandia y Jorge Joel Reyes Méndez de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco .

-La Formación y motivación del profesorado: La pizarra electrónica como alternativa para la integración de las tecnologías en la educación superior. Jorge Joel Reyes Méndez de la Universidad Autónma Metropolitana-Xochimilco.

-Criterios para la evaluación y uso contextualizado de material educativo en línea. Jorge Joel Reyes Méndez Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco.

Durante la asamblea de Profesores asociados a la AMPB, A.C., se llegó a los siguientes acuerdos: la mesa directiva actual tendrá un año más de vigencia; se fijaron las nuevas cuotas para el año 2003 se publicará en la Revista de Educación Bioquímica una semblanza del libro "Bioquímica y algo más...", de los doctores Garcilaso Pérez y Vejar Rivera. También, se informó del cambio de nombre del "Boletín de Educación Bioquímica" a "Revista de Educación Bioquímica". En cumplimiento al acuerdo de la asamblea del 2001; se dio un informe de los trámites realizados para que la AMPB, A.C. tenga la posibilidad de recibir donativos; se comunicó la invitación de la Sociedad Mexicana de Bioquímica para que la AMPB, A.C. organice un Simposio de Educación en Bioquímica para ser presentado durante el Congreso Nacional de Bioquímica del presente año.

Como parte de los eventos de clausura de la Semana de la Educación Bioquímica, se presentó el libro Termodinámica Biológica del Dr. Rafael Vázquez Duhalt investigador del Instituto de Biotecnología de la UNAM. Los comentarios de los presentadores, coincidieron en la forma tan sencilla como el Dr. Vázquez explica conceptos complejos y las pone al alcance de estudiantes de las áreas relacionadas con la Bioquímica.

La Semana de Educación Bioquímica fue clausurado por la Dra. Ana Ma. López Colomé, Jefa del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina quien resaltó el éxito de la reunión y la participación entusiasta de los asistentes y en particular agradeció al Dr. Alejandro Cravioto, Director de la Facultad, por el apoyo otorgado para la realización del evento, y en especial por su apoyo para que en esta ocasión y también por primera vez el Mensaje Bioquímico, se editara a colores.

Es importante para todos los que este año participamos en la organización de la Semana de la Educación Bioquímica 2002 agradecer a las siguientes instituciones y personas por el gran apoyo que nos dieron: al Dr. Alejandro Cravioto, Director de la Facultad, a la Dra. Ana María López Colomé por las facilidades otorgadas para que este evento se realizara; al Instituto de Química y la Unidad de Estudios de Posgrado de la UNAM; a la Academia Mexicana de Ciencias y a la Red Latinoamericana de Ciencias Biológicas (RELAB), dependiente de CONACyT que nos dieron apoyo económico para cubrir los gastos de los profesores invitados, además en la Facultad de Medicina agradecemos a la Lic. Julieta Ambriz y al personal de Diseño Gráfico a su cargo, a todo el personal de la imprenta por su compromiso por el trabajo; al Departamento de Servicios de Computo por las facilidades prestadas; al Lic. Armando Barbosa Calderón y al personal administrativo del Departamento de Bioquímica que colaboró durante la realización del evento, gracias.

Nota enviada en prueba de galeras: La Secretaria de Educación Pública apoyó la realización de la Semana de Educación Bioquímica 2002, por lo cual, la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C. agradece su colaboración y espera seguir contando con ella.

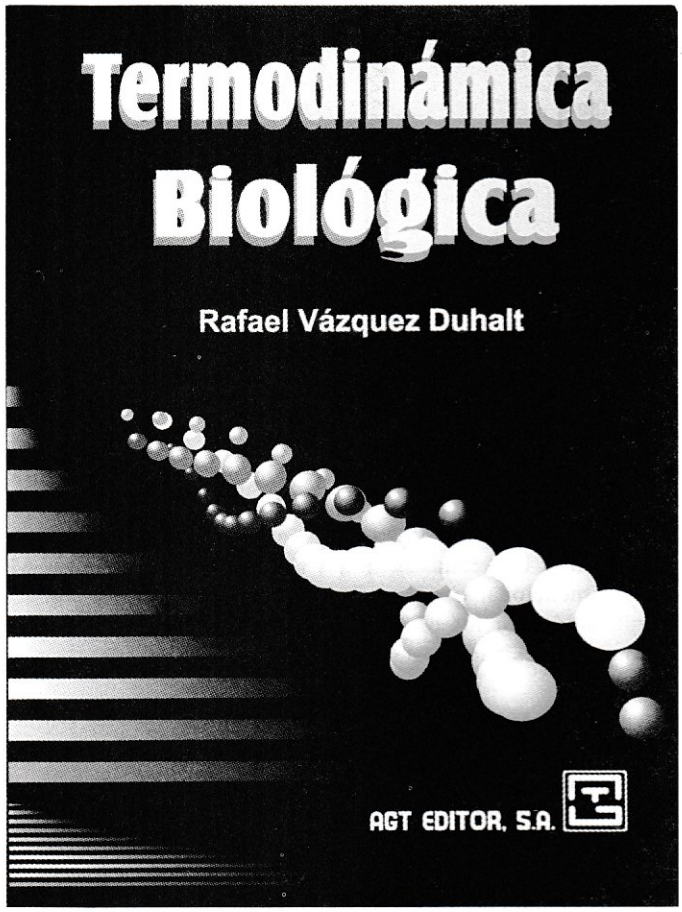
El Comité Organizador de la
Semana de la Educación Bioquímica 2002:
I. Patricia del Arenal Mena, Alicia Cea Bonilla, Marco Antonio Juárez Oropeza, Héctor Riveros Rosas, Patricia Torres Durán Edgar Vázquez Contreras.

REB 21(4):274-275, 2002

Libros de Reciente Publicación

Termodinámica Biológica

Autor: Rafael Vázquez Duhalt
Editado por: AGT Editor, S.A.



Es para mi un honor acompañar al Dr. Rafael Vázquez Duhalt, autor del libro, así como a los distinguidos miembros de la mesa, Doctores Agustín López Munguía y Gustavo Viniegra. Debo decir que mi formación de bióloga es la más alejada del tema que nos ocupa, pero quizas, también, el mejor ejemplo de lo útil que este texto puede resultar.

En primer lugar, deseo felicitar al autor y a los editores por darse a la tarea de escribir textos en español, ubicados en la realidad mexicana, aunque bien puede trasladarse a otros ámbitos hispanoparlantes. La capacidad de comunicación es, sin duda, una de las habilidades a desarrollar en los estudiantes de nivel pre y posgrado, y difícilmente se logrará si no se fomenta la lectura de material escrito originalmente en la propia lengua, pues las traducciones científicas frecuentemente adolecen de vicios y deformaciones de lenguaje. Lamentablemente, los textos escritos por autores mexicanos son pocos, quizás porque los sistemas de evaluación de los académicos no estimulan este tipo de actividades, quizás por el alejamiento entre los investigadores y los estudiantes, particularmente de pregrado.

En este punto quiero destacar el ejemplo que plantea la autoría de este texto. Un investigador joven, pujante, con formación multidisciplinaria y multiinstitucional, con un fuerte ritmo de generación de publicaciones y de desarrollos aplicados o aplicables a la solución de problemas reales, que lo lleva al nivel más alto del Sistema Nacional de Investigadores, es capaz de ofrecernos un libro en el que se ofrece en un lenguaje claro para aquéllos que tenemos formación biológica, menos sólida en matemáticas que quienes tienen estudios en el campo de la ingeniería, pero con todo el rigor lógico y descriptivo de los problemas termodinámicos aplicados a los sistemas vivos.

El autor inicia, acertadamente, tomando palabras del gran físico Erwin Schrodinger, del gran clásico ¿Qué es la vida?, texto que constituye una de las primeras aproximaciones de descripción en términos físicos de los sistemas biológicos. Los primeros temas constituyen un ágil glosario, que permite al estudiante tener rápidamente las definiciones y nomenclatura requeridos para el manejo del texto. La primera grata sorpresa es la forma inmediata en la que se ligan los conceptos, muchas veces lejanos y abstractos en los textos clásicos de fisicoquímica y termodinámica, con los diferentes sistemas biológicos y bioquímicos. Es también importante señalar la continua mención a temas relacionados con el medio ambiente, así como el uso indistinto de ejemplos relacionados con microorganismos, plantas o animales. Esto se debe a la formación multidisciplinaria del propio autor y a su experiencia en distintos campos de investigación. Esto lo hace útil en diferentes asignaturas y carreras o planes de estudio.

La falta de formación matemática es un problema de la educación nacional e internacional, cuyas raíces se remontan a la educación básica. No es extraño que la selección de carreras se de con base en la ausencia de matemáticas. No es extraño, tampoco, que los profesores desistan del rigor matemático en sus explicaciones por los problemas básicos de formación que tienen los alumnos. Este texto ofrece una herramienta para aquellos profesores que no quieren claudicar, pues cuentan con un elemento que lleva de la mano al estudiante en el desarrollo y análisis de fórmulas, y los ejemplos resueltos tienen las deducciones matemáticas correspondientes.

En los programas de licenciatura no existen asignaturas que específicamente requieran este libro como texto base, pero resulta especialmente útil para profesores en busca de ejemplos del área biológica, especialmente en aquellas carreras que ofrecen un sólido tronco común en las ciencias básicas (matemáticas, física, química general) y ofrecen opciones terminales más biológicas, como son las propias carreras de la facultad de química, ingeniería bioquímica, la propia biología. El diseño tradicional de los planes pretende ofrecer una formación sólida en estas áreas y muchos profesores buenos se pierden u olvidan que el destino final de sus estudiantes está en el área biológica.

Una demanda de profesores y alumnos de la facultad es la de contar con ejemplos relativos a su área, por lo que el texto puede ser , insisto, particularmente útil para los profesores para ofrecer vínculos a su formación como físicos o químicos con el destino final de los alumnos, a quienes les es útil como una fuente de consulta

Otro campo lo constituyen las asignaturas intermedias, cuando se pasa ya a los aspectos biológicos en cursos como bioquímica, biología celular, fisiología. La falta de rigor en la formación matemática de los biólogos y médicos, en especial, provoca que los cursos sean más descriptivos, ofrezcan el "retrato" de la vía metabólica, pero se pierdan los conceptos revisados en los cursos básicos y no se detallen los fenómenos energéticos. En este sentido, el texto es también muy útil por el tipo de ejemplos que maneja y por la temática, particularmente en los capítulos 6,7 y 8, que revisan glicólisis, flujos energéticos celulares y cadena respiratoria terminal.

El capítulo final, relacionado con el crecimiento microbiano, constituye un excelente apoyo en cursos de biotecnología, ingeniería bioquímica y microbiología general.

Algunos de los recursos didácticos del libro que vale la pena resaltar son:

-el estilo personal (leamos, sigamos, si tenemos este valor en la ecuación, entonces...). El alumno es obligado a seguir las deducciones matemáticas, presentadas en forma ordenada y marcadas con numerales.

-Además de varios problemas resueltos por capítulo, al final de cada uno existen varios. Aquí añadiría que sería útil para futuras ediciones el contar con las respuestas a los mismos.

-Las tablas de cada capítulo constituyen excelentes compendios de datos. Los apéndices lo son también, incluyendo constantes fundamentales, valores termodinámicos básicos, factores de conversión, entre otros.

El libro resulta de interés también para los estudiantes de posgrado. Existe una tendencia al apoyo de los "doctorados por investigación" o a la selección de programas de estudio individuales, con poco peso a la formación básica de los estudiantes. En la UNAM, en el posgrado en Ciencias Bioquímicas se trata de reforzar estos conceptos, pero el tiempo no permite revisar concienzudamente las bases aquí tratadas. En este sentido el material del texto es útil para soportar estos cursos de bioquímica, así como para ofrecer apoyo formativo a quienes no llevan cursos formales y requieren reforzar conceptos, como las fuerzas de estabilización de nucleótidos y proteínas para formar las grandes macromoléculas biológicas y adentrarse en los campos de la proteómica y la genómica.

El texto resulta un excelente complemento a los textos bioquímicos clásicos, como Lehningher, Voet y Stryer.

Amelia Farrés González
Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

CONVOCATORIA

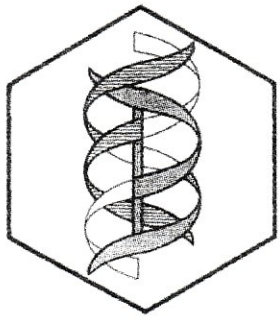
REGISTRO DE LA CANDIDATURA PARA OCUPAR LA PRESIDENCIA DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A.C., DURANTE EL BIENIO 2003-2005

Con base en el artículo noveno de los Estatutos de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C., el Consejo Directivo de la Asociación convoca a sus Asociados a postular Candidatos para ocupar la Presidencia de la Asociación durante el bienio 2003-2005, a partir de septiembre de 2003
Los Asociados Numerarios deberán postular por escrito a sus Candidatos y cada Candidato postulado deberá entregar la siguiente documentación:

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

Las cartas de postulación de los Asociados y la documentación de cada Canditato deberá ser entregadas en la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C. en el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, UNAM, antes del lunes 16 de junio de 2003. Los documentos requeridos podrán ser entregados personalmente o enviados por correo postal al apartado número 70-281. El envío de la documentación por medios electrónicos (fax o correo electrónico) sólo tendrá validez hasta recibir los documentos originales.
Con base en el artículo décimo segundo de nuestros Estatutos, el próximo Presidente será elegido de la lista de Candidatos generales por el Consejo Directivo de la Asociación. La elección del nuevo Presidente se llevará a cabo durante la reunión de negocios del XII Congreso de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C., programada para agosto de 2003.
Ningún candidato podrá ser registrado depués del 16 de junio de 2003, después de lo cual el Consejo Directivo analizará todas las propuestas para generar una lista de Candidatos elegibles, misma que presentará durante la sesión regular de negocios de la Asociación, durante el XII Congreso.

Entrega de documentos: a la Sra. Marivel Rojas García en el Departamento de Bioquímica en la Facultad de Medicina, UNAM o enviar al Apartado Postal 70-281 México D.F., 04510, México: Correo electrónico: reb@bq.unam.mx
Tel.: 5623-2170, fax 5616-2419



SEMANA DE LA EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 2003

XXX TALLER DE ACTUALIZACIÓN BIOQUÍMICA, Organizado por el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, U. N. A. M.

Y

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

Fecha: Del 11 al 16 de agosto de 2003.

Lugar: Auditorio Alfonso Caso, Universidad Nacional Autónoma de México.

Informes

Teléfonos: (55) 5623 2170, (55) 5623 2175 y Fax: (55) 5616 2419
Sra. Marivel Rojas García

Para el XXX T.A.B.
comitetab@bq.unam.mx

Para el XII Congreso
reb@laguna.fmedic.unam.mx

http://bq.unam.mx/%7Eevazquez/tab/ y http://bq.unam.mx/

Comités Organizadores

Del XXX T.A.B.

Dr. Oscar Flores Herrera
oflores@bq.unam.mx
Dr. Héctor Riveros Rosas
riveros@servidor.unam.mx
Dr. Alejandro Sosa Peinado
asosa@bq.unam.mx
Dr. Edgar Vázquez Contreras
evazquez@bq.unam.mx

Del XII Congreso

Dra. Yolanda Saldaña Balmori
balmori@ servidor.unam.mx balmori@bq.unam.mx
Dra. Virginia Sánchez Meza
sanchezvicky@hotmail.com
Dra. Sara Morales López
saramolo@servidor.unam.mx

REB 21(4):278, 2002

CORRESPONSALES DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

Si eres miembro de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C. o suscriptor de la REB 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 de Sudamérica, España y otros sitios en donde la REB sea leída.

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 de la REB 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 *Currículum 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 de la REB de su localidad y comunicación inmediata de los cambios en él.

5.1. c) Colaboración en la promoción, difusión y distribución de la REB 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 la Coordinadora de Corresponsales, Comité Editorial de la REB, Apartado Postal 70-281, México, 04510, DF, MÉXICO, o bien al Tel: (52) 5623-2168/ FAX (52) 5616-24-19.
Email: balmori@laguna.fmedic.unam.mx

Yolanda Saldaña Balmori
Coordinadora de Corresponsales de la REB.

ÍNDICE ANUAL DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 2002

AUTORES DE EDITORIALES

Muñoz Clares Rosario A. La importancia de escribir un artículo de revisión en la formación de los alumnos de Posgrado. REB *21*(1): 1-2

Reyes Méndez Jorge Joel. La educación superior a distancia. REB *21*(3): 163-165

Zentella Dehesa Alejandro. Fortalecimiento de los programas de Posgrado en Bioquímica y áreas afines. REB *21*(2): 81-82

Zentella Dehesa Alejandro. Un Visionario, dos alumnos y un gusano: El Premio Nobel 2002 en Medicina. REB *21*(4): 227-228

AUTORES DE LOS ARTÍCULOS

Agramonte-Hevia José y Ortega Enrique. Aspectos bioquímicos de la señalización por receptores para la porción Fc de las subclases de inmunoglobulina G ($Fc_{\gamma}Rs$). REB *21*(3): 174-180

Caballero Benítez Andrea y Morán Andrade Julio. Mecanismos moleculares de la regulación de la muerte apoptótica. REB *21* (4): 235-244

Cortina Ramírez Gloria Emelí y Calderón Salinas José Víctor. El hueso como un órgano blanco de la intoxicación con plomo. REB *21*(4): 252-257

del Arenal Mena Irene Patricia. Metabolismo anaerobio en eucariotes inferiores I. El Hidrogenosoma. REB *21*(2): 83-89

del Arenal Mena Irene Patricia, Guevara Flores Alberto, Cea Bonilla Alicia y Escamila Marván José Edgardo. Metabolismo anaerobio en eucariotes inferiores II. Mitocondrias anaerobias. REB *21* (4): 229-234

Domínguez Pérez-Tejada Cesar, González Halphen Diego, Reynaga Obregón Jesús y Romero Camarena David. El Posgrado en Ciencias Biomédicas: Una visión desde adentro. REB *21*(2): 127-132

Escudero Abarca Blanca I y Sánchez Esquivel Sergio. Bacteriocinas de bacterias lácticas: Biosíntesis y Transporte. REB *21* (1): 12-20

Estrada Bernal Adriana. Citocinas y activación endotelial. REB *21*(1): 41-49

García Pérez Cecilia y Martínez Federico. Los mecanismos que controlan la síntesis de progesterona en la placenta humana. REB *21*(3): 181-189

Gónzalez Halphen Diego y Peña Díaz Antonio. (Revisión del texto). Traducido del inglés al español por González Hernández José Luis. Estándares para el doctorado en las Biociencias Moleculares. Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (2000). REB *21*(2): 113-126

Gutiérrez-Venegas Gloria, Peña-Párraga Mauricio y Flores-Lides Armando. Los lipopolisacáridos como promotores de procesos inflamatorios en cavidad oral. REB *21*(2): 98-104

Hernández Torres Rosa Patricia, Ramos Jiménez Arnulfo y Juárez Oropeza Marco Antonio. Ejercicio físico aerobio y lipemia posprandial. REB*21*(3): 198-206

Konigsberg Fainstein Mina. Telómeros y telomerasa ¿Llaves de la inmortalidad celular? REB *21*(1): 50-57

Molina López José, Torres Márquez María Eugenia y Cravioto Alejandro. La relevancia del receptor conocido como el antígeno de superficie CD14 (sCD14) en las respuestas celulares al lipopolisacárido. REB *21*(3): 166-173

Montero-Morán Gabriela, Alvarez-Añorve Laura I, Bustos-Jaimes Ismael y Lara-González Samuel. Reporteros bioluminiscentes y fluorescentes: Proteína verde fluorescente y aequorina. REB *21*(2): 90-97

Obregón Ana María, Saab Jalil, Rodríguez Rogelio, Alagón Alejandro y Farrés Amelia. Logros y retos del Posgrado en Ciencias Bioquímicas de la UNAM. REB *21* (2): 133-139

Pardo Juan Pablo, Martínez Federico y Guerra Guadalupe. Reflexiones acerca de la estequiometría H^+/e^- y H^+/ATP de la cadena respiratoria y de la ATP sintetasa. REB *21*(1): 3-11

Peña Antonio. Breve manual del estudiante del posgrado. REB 21(2): 105-112

Pérez-Méndez Oscar y Huesca Gómez Claudia. El papel antiaterogénico de la paraoxonasa 1. REB *21*(4): 245-251

Prado Flores Guadalupe, Sierra Santoyo Adolfo, López Ma. de Lourdes y Albores Arnulfo. Biotransformación y efectos sobre el metabolismo de xenobióticos del DDT. REB *21*(3): 190-197

Prats Pedro A y del Rosario Massiel. El yin y el yan de la homeostasis sanguínea. REB *21*(3): 207-213

Sampedro José G. La levadura acumula trehalosa para proteger proteínas y membranas durante el estrés. REB *21*(4): 258-265

Valadez Graham Viviana y Recillas Targa Félix. Características y formación de un dominio transcripcionalmente activo en eucariotes. REB *21*(1): 21-40

AUTORES DE OTRAS COMUNICACIONES

Calderón Salinas José Víctor. Presentación de la Revista de Educación Bioquímica. REB *21*(1): 70

Carvajal Aguilera Karla G. Problema Bioquímico y su respuesta. Producción y transferencia de energía en el corazón. REB *21* (4): 266 y 269

Covián Raúl. Problema Bioquímico y su respuesta. Cinética Enzimática. Inhibidores fuertemente unidos (pseudo-irreversibles). REB *21*(1): 58, 61 y 62

Covián Raúl. Problema Bioquímico. Cinética Enzimática. Inhibición mixta parcial. REB *21*(2): 142, 145 y 146

del Arenal Mena Irene Patricia, Cea Bonilla Alicia, Torres Durán Patrica V, Pardo Vázquez Pablo, Piña Garza Enrique y Juárez Oropeza Marco Antonio. Informe de la Semana de la Educación Bioquímica 2001 (XXVIII Taller de Actualización Bioquímica y IX Congreso de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica A.C.) REB *21*(1): 64-68

Díaz Pontones David. Posgrado en Biología Experimental. REB *21*(2): 140-141

Farrés González Amelia. (Comentarista). Libros de reciente publicación. Termodinámica Biológica de Rafael Vazquez Duhalt. REB *21*(4): 274-275

Fernández Rivera-Río Leonor y Saldaña Balmori Yolanda. Premio de la UNESCO para la Dra. Ana María López Colomé. REB *21*(1): 69

Jasso Chávez Ricardo. Problema Bioquímico y su respuesta. Cinética Enzimática . Efecto de la temperatura. REB *21*(3): 214, 217 y 218

Saldaña Balmori Yolanda. Boletín y Revista de Educación Bioquímica (BEB-REB). REB *21*(1): 70-71

Saldaña Balmori Yolanda. CRUCIBIOQ y su solución. Metabolismo del glucógeno. REB *21*(1): 59, 60 y 63

Saldaña Balmori Yolanda. CRUCIBIOQ y su solución. Vía de las pentosas fosfato. REB *21*(2): 143, 144 y 147

Saldaña Balmori Yolanda. CRUCIBIOQ y su solución. ß-oxidación . REB *21*(3): 215, 216 y 219

Saldaña Balmori Yolanda. CRUCIBIOQ y su solución. Síntesis de ácidos grasos. REB *21* (4): 267, 268 y 270

TÍTULOS DE EDITORIALES

Fortalecimiento de los programas de posgrado en bioquímica y áreas afines. Zentella Dehesa Alejandro. REB *21*(2): 81-82

La educación superior a distancia. Reyes Méndez Jorge Joel. REB *21*(3): 163-165

La importancia de escribir un artículo de revisión en la formación de los alumnos de posgrado. Muñoz Clares Rosario A. REB *21*(1): 1-2

Un visionario, dos alumnos y un gusano: el Premio Nobel 2002 de Medicina. Zentella Dehesa Alejandro. REB *21*(4): 227-228

TÍTULOS DE ARTÍCULOS

Aspectos bioquímicos de la señalización por receptores para la porción Fc de las subclases de inmunoglobulina G (Fc_aRs). Agramonte-Hevia José y Ortega Enrique. REB *21*(3): 174-180

Bacteriocinas de bacterias lácticas: Biosíntesis y Transporte. Escudero Abarca Blanca I y Sánchez Esquivel Sergio. REB *21* (1): 12-20

Biotransformación y efectos sobre el metabolismo de xenobióticos del DDT. Prado Flores Guadalupe, Sierra Santoyo Adolfo, López Ma. de Lourdes y Albores Arnulfo. REB *21*(3): 190-197

Breve manual del estudiante del Posgrado. Peña Antonio. REB *21*(2): 105-112

Características y formación de un dominio transcripcionalmente activo en eucariotes. Valadez Graham Viviana y Recillas Targa Félix. REB *21*(1): 21-40

Citocinas y activación endotelial. Estrada Bernal Adriana. REB *21*(1): 41-49

Ejercicio físico aerobio y lipemia posprandial. Hernández Torres Rosa Patricia, Ramos Jiménez Arnulfo, Juárez Oropeza Marco Antonio. REB*21*(3): 198-206

El hueso como un órgano blanco de la intoxicación con plomo. Cortina Ramírez Gloria. Emelí y Calderón Salinas José Víctor. REB *21*(4): 252-257

El papel antiaterogénico de la paraoxonasa 1. Pérez-Méndez Oscar y Huesca Gómez Claudia. REB *21*(4): 245-251

El Posgrado en Ciencias Biomédicas: Una visión desde adentro. Domínguez Pérez-Tejada Cesar, González Halphen Diego, Reynaga Obregón Jesús y Romero Camarena David. REB *21*(2): 127-132

El yin y el yan de la homeostasis sanguínea. Prats Pedro A y del Rosario Massiel. REB *21*(3): 207-213

Estándares para el doctorado en las Biociencias Moleculares. Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (2000). Gónzalez Halphen Diego y Peña Díaz Antonio. (Revisión del texto). Traducido del inglés al español por Gónzalez Hernández José Luis. REB *21*(2): 113-126

La levadura acumula trehalosa para proteger proteínas y membranas durante el estrés. Sampedro José G. REB *21*(4): 258-265

La relevancia del receptor conocido como el antígeno de superficie CD14 (sCD14) en las respuestas celulares al lipopolisacárido. Molina López José , Torres Márquez María Eugenia y Cravioto Alejandro. REB *21*(3): 166-173

Logros y retos del Posgrado en Ciencias Bioquímicas de la UNAM. Obregón Ana María, Saab Jalil, Rodríguez Rogelio, Alagón Alejandro y Farrés Amelia. REB *21* (2): 133-139

Los lipopolisacáridos como promotores de procesos inflamatorios en cavidad oral. Gutiérrez-Venegas Gloria, Peña-Párraga Mauricio y Flores-Lides Armando. REB*21*(2): 98-104

Los mecanismos que controlan la síntesis de progesterona en la placenta humana. García Pérez Cecilia y Martínez Federico. REB *21*(3): 181-189

Mecanismos moleculares de la regulación de la muerte apoptótica. Caballero Benítez Andrea y Morán Andrade Julio. REB *21* (4): 235-244

Metabolismo anaerobio en eucariotes inferiores I. El Hidrogenosoma. del Arenal Mena Irene Patricia. REB *21*(2): 83-89

Metabolismo anaerobio en eucariotes inferiores II. Mitocondrias anaerobias. del Arenal Mena Irene Patricia, Guevara Flores Alberto, Cea Bonilla Alicia y Escamilla Marván José Edgardo. REB *21* (4): 229-234

Reflexiones acerca de la estequiometría H^+/e^- y H^+/ATP de la cadena respiratoria y de la ATP sintetasa. Pardo Juan Pablo, Martínez Federico y Guerra Guadalupe.REB *21*(1): 3-11

Reporteros bioluminiscentes y fluorescentes: Proteína verde fluorescente y aequorina. Montero - Morán Gabriela, Alvarez -Añorve Laura I, Bustos -Jaimes Ismael y Lara- González Samuel. REB *21*(2): 90-97

Telómeros y telomerasa ¿Llaves de la inmortalidad celular? Konigsberg Fainstein Mina. REB *21*(1): 50-57

TÍTULOS DE OTRAS COMUNICACIONES

Boletín y Revista de Educación Bioquímica (BEB-REB). Saldaña Balmori Yolanda. REB *21*(1): 70-71

CRUCIBIOQ y su solución. Metabolismo del glucógeno. Saldaña Balmori Yolanda. REB *21*(1): 59, 60 y 63

CRUCIBIOQ y su solución. Vía de las pentosas fosfato. Saldaña Balmori Yolanda. REB *21*(2): 143, 144 y 147

CRUCIBIOQ y su solución. ß-oxidación. REB *21*(3): 215, 216 y 219

CRUCIBIOQ y su Solución. Síntesis de ácidos grasos. Saldaña Balmori Yolanda. REB *21* (4): 267, 268 y 270

Informe de la Semana de la Educación Bioquímica 2001 (XXVIII Taller de Actualización Bioquímica y IX Congreso de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica A.C.). del Arenal Mena Irene Patricia, Cea Bonilla Alicia, Torres Durán Patrica V, Pardo Vázquez Pablo, Piña Garza Enrique y Juárez Oropeza Marco Antonio. REB *21*(1): 64-68

Posgrado en Biología Experimental. Díaz Pontones David. REB *21*(2): 140-141

Premio de la UNESCO para la Dra. Ana María López Colomé. Fernández Rivera-Río Leonor y Saldaña Balmori Yolanda. REB *21*(1): 69

Presentación de la Revista de Educación Bioquímica. Calderón Salinas José Víctor. REB *21*(1): 70

Problema Bioquímico y su respuesta. Cinética Enzimática. Inhibidores fuertemente unidos (pseudo-irreversibles). Covián Raúl. REB *21*(1): 58, 61 y 62

Problema Bioquímico y su respuesta. Cinética Enzimática. Inhibición mixta parcial. Covián Raúl. REB *21*(2): 142, 145 y 146

Problema Bioquímico y su respuesta. Cinética Enzimática. Efecto de la temperatura. Jasso Chávez Ricardo. REB *21*(3): 214, 217 y 218

Problema Bioquímico y su respuesta Producción y transferencia de energía en el corazón. Carvajal Aguilera Karla G. REB *21* (4): 266 y 269

Temodinámica Biológica de Rafael Vázquez Duhalt (Libros de reciente publicación) comentado por Farrés González Amelia. REB *21*(4): 274-275

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

La REB 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 revisen algunos de los últimos números de esta publicación para que ven estilo, tipos de abreviaturas, etc., así como que se ajusten a los siguientes lineamientos para facilitar la labor editorial:

I. ARTÍCULOS DE REVISIÓN

1) El artículo deberá enviarse en un disco para computadora, escrito en los procesadores de textos **"Winword" o "Word-perfect"**, con una extensión máxima de 15 cuartillas a doble espacio (27 renglones por cuartillas y 70 caracteres por renglón).Éste deberá ir acompañado de tres impresiones del artículos 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. 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: nombre 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 última páginas, de acuerdo con lo que se muestra en el siguiente ejemplo:

Fraga C G y Oteiza PI (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, pp81-104.

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. En caso de emplear figuras previamente publicadas, deberá dársele el crédito correspondiente u obtener el permiso para su publicación. Las figuras dentro del texto deberán mencionarse con minúsculas, la palabra entera y sin paréntesis; cuando se haga referencia a ellas deberán citarse así (Fig. X) numerándolas con arábigos. Las tablas siempre llevarán la inicial a mayúscula y se numeraran con romanos.

6) Se deberá evitar hasta donde sea posible los pies de página. 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 interesante, relevantes o significativos, información de tipo general, avisos de reuniones académicas y cursos, bolsa de trabajo, comentarios o erratas de artículos publicados previamente, 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 en un lapso no mayor de dos meses. 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 a la Revista de Educación Bioquímica, Apartado Postal 70-281, México 04510, DF o bien por intermedio del corresponsal de la REB en su localidad.