

REB 2007

REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA



Órgano de información de la
**Asociación Mexicana de
Profesores de Bioquímica, A.C.**

Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina
UNAM



Facultad de Medicina
UNAM



Sociedad Mexicana de
Bioquímica, A.C.

EDITADO DESDE 1982 COMO BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

VOL. 26

No. 4

DICIEMBRE 2007

COMITÉ EDITORIAL

EDITOR EN JEFE

JOSÉ VÍCTOR CALDERÓN SALINAS

Departamento de Bioquímica
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

EDITORES

MARCO ANTONIO JUÁREZ OROPEZA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

MINA KÖNIGSBERG FAINSTEIN

División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa

GRACIELA MEZA RUIZ

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

JORGE JOEL REYES MÉNDEZ

División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco

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 Investigaciones Biomédicas, UNAM e
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición
"Salvador Zubirán"

ANA CECILIA ZAZUETA MENDIZÁBAL

Departamento de Bioquímica
Instituto Nacional de Cardiología
"Dr. Ignacio Chávez"

ASISTENTE EDITORIAL

MARIVEL ROJAS GARCÍA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

EDITORES FUNDADORES

GUILLERMO CARVAJAL SANDOVAL

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias
e Instituto Politécnico Nacional

JESÚS MANUEL LEÓN CÁZARES

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

CORRESPONSALES

ROCÍO SALCEDA SACANELLES

Coordinadora
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

MARÍA DE LOS ANGELES BOFFILL CÁRDENAS

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

CARLOS CERVANTES VEGA

Instituto de Investigaciones Químico Biológicas
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

JOSÉ CARLOS GARCÍA PIÑEIRO

Facultad de Ciencias Básicas "Victoria de Girón"
Instituto Superior de Ciencias Médicas. La Habana, Cuba

ALEJANDRO MARTÍNEZ MARTÍNEZ

Instituto de Ciencias Biomédicas
Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua

MYRNA SABANERO LÓPEZ

Instituto de Investigación en Biología Experimental
Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guanajuato

SERGIO SÁNCHEZ-ARMÁSS ACUÑA

Departamento de Fisiología y Farmacología
Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

MARTHA ANGÉLICA QUINTANAR ESCORZA

Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina Humana, Universidad Juárez del Estado de Durango

MARÍA MALDONADO VEGA

Departamento de Investigación. Centro de Innovación Aplicada en
Tecnologías Competitivas, A.C. León, Gto., Mexico

Publicación incluida por el Centro de Información Científica y Humanística de la Universidad Nacional Autónoma de México en la base de datos Periódica, Iresie, Redalyc y Latindex.

REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (REB), publicación trimestral. La presentación y disposición en conjunto y de cada página de la Revista de Educación Bioquímica son propiedad del editor. Derechos reservados © Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C. Queda estrictamente prohibida la reproducción parcial o total por cualquier sistema o método mecánico o electrónico sin autorización por escrito del editor. Certificados de: Licitud de Título: 12000; Licitud de Contenido: 8397, expediente No. 1/432"2"/15792; Reserva al título en Derechos de Autor No. 04-2002-030616225500-102. (ISSN: 1665-1995); Reserva de título en Derechos de Autor para publicación electrónica No. 04-2005-092612014100-203 (ISSN: 187-3690). Diseño: Celia Virginia Sánchez Meza; Tiraje 750 ejemplares. Impresión: Departamento de Impresos de la Facultad de Medicina, UNAM. Distribuidor: Servicio Postal Mexicano, Reg. No. PP09-1001; UNAM-Departamento de Bioquímica y Facultad de Medicina. Distribución electrónica: Programa Universitario de Investigación en Salud (PUIS), UNAM (<http://computo.sid.unam.mx/Bioquimica> o bien <http://www.puis.unam.mx>). Correspondencia: Comité Editorial, Apartado Postal 70-281, Coyoacán, C. P. 04510, México, D. F. Correo electrónico: reb@bq.unam.mx.

El contenido de los artículos y las opiniones expresadas en ellos son responsabilidad de los autores y no reflejan necesariamente las del Comité Editorial.

REVISORES ASOCIADOS AL COMITÉ EDITORIAL (2007)

GUILLERMO ÁLVAREZ LLERA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

CLORINDA ARIAS ÁLVAREZ

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

PABLO DAMIÁN MATSUMURA

División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa

HÉCTOR JAVIER DELGADILLO GUTIÉRREZ

División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Universidad Nacional Autónoma Metropolitana-Xochimilco

DAVID MANUEL DÍAZ PONTONES

División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa

JUAN CUAUHTÉMOC DÍAZ ZAGOYA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

GUILLERMO ELIZONDO AZUELA

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

FERNANDO ENRÍQUEZ RINCÓN

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

JOSÉ EDGARDO ESCAMILLA MARVÁN

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

MARCO TULIO GONZÁLEZ MARTÍNEZ

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

ALFONSO GONZÁLEZ NORIEGA

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

AGUSTÍN GUERRERO HERNÁNDEZ

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

MARINA MACIAS SILVA

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

MARÍA DEL CARMEN MALDONADO BECERRIL

Hospital de Pediatría
Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social

VILMA MALDONADO LAGUNAS

Instituto Nacional de Cancerología

JOSÉ LUIS MARTÍNEZ CAMACHO

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

JULIO MORÁN ANDRADE

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

JUAN PABLO PARDO VÁZQUEZ

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

SIGIFREDO PEDRAZA SÁNCHEZ

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición
"Salvador Zubirán"

MIGUEL PÉREZ DE LA MORA

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

MARTHA ANGÉLICA QUINTANAR ESCORZA

Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina, Universidad Juárez del Estado de Durango

MARTHA EUGENIA RAMÍREZ DOMÍNGUEZ

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

MARIO RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

LEOPOLDO SANTOS ARGUMEDO

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

PATRICIA TORRES DURÁN

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

JESÚS VALDÉS FLORES

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

JOSÉ VÁZQUEZ PRADO

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

NICOLÁS VILLEGAS SEPÚLVEDA

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

ARTURO EDGAR ZENTENO GALINDO

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

CONTENIDO

COMITÉ EDITORIAL

EDITORIAL

LA EDUCACIÓN, UNA ASIGNATURA SIEMPRE
PENDIENTE: LOS PROBLEMAS
Elia Patricia Ordaz Esquivel y
José Víctor Calderón Salinas.....119

ARTÍCULOS

LA NEUROQUÍMICA DEL ESTRÉS Y EL PAPEL
DE LOS PÉPTIDOS OPIOIDES
José Samuel Mucio-Ramírez.....121

SORPRESAS NUCLEARES: NUEVAS
PERSPECTIVAS DE LA DINÁMICA
DEL Ca²⁺ INTRACELULAR
Verónica Morales Tlalpan, Carlos Saldaña y
Mauricio Díaz Muñoz.....129

"¡SILENCIO MENSAJEROS! QUÉ SON Y
CÓMO ACTÚAN LOS MICRORNAS"
Fabián Flores, Miguel Ángel Martínez,
Catalina Arenas, Alejandra Covarrubias y
José Luis Reyes.....135

OTRAS COMUNICACIONES

PROBLEMA BIOQUÍMICO
Caracterización de los receptores cardíacos de
rianodina por ensayo de unión a ligando marcado
radiactivamente:
Angélica Rueda y Sánchez de la Vega.....142

CRUCIBIOQ
PROTEÍNAS ESTRUCTURALES
Yolanda Saldaña Balmori.....144

RESPUESTA AL PROBLEMA BIOQUÍMICO
Angélica Rueda y Sánchez de la Vega.....147

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ
PROTEÍNAS ESTRUCTURALES
Yolanda Saldaña Balmori.....149

INFORME DEL XV CONGRESO DE LA
ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES
DE BIOQUÍMICA, A. C. (2007)
Yolanda Saldaña Balmori
Rocío Salceda Sacanelles
Virginia Sánchez Meza y
Leonor Fernández Rivera-Río.....150

ÍNDICE ANUAL DE LA REVISTA DE
EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 2007.....152

INSTRUCCIONES PARA LOS
COLABORADORES DE LA REVISTA DE
EDUCACIÓN BIOQUÍMICA.....155

EDITORIAL

LA EDUCACIÓN, UNA ASIGNATURA SIEMPRE PENDIENTE: LOS PROBLEMAS

El pasado noviembre, nuevamente los resultados de exámenes nacionales e internacionales que califican a nuestros alumnos de educación básica y media dieron los resultados que tristemente ya son costumbre. Más de la mitad de los alumnos de 15 años se ubicaron en los niveles 0 y 1 en las habilidades de ciencia y matemáticas, mostrando una notoria insuficiencia para continuar con sus estudios en los niveles superiores, esto según el Programa Internacional de Evaluación de los Alumnos (PISA, por sus siglas en inglés), misma que elabora, aplica y presenta la OCDE (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico). En esta evaluación, México obtuvo 410 puntos, muy por debajo a los 556 de Corea del Sur, número uno en las habilidades de ciencias de los países evaluados (considerando 500 puntos el promedio estadístico, que no es lineal y que solo permite la comparación). La evaluación en conocimientos científicos se hizo con cuestiones referidas a cultivos transgénicos, pantallas solares, ropas "inteligentes", cuestiones de geología, la historia de las vacunas, el ejercicio físico, la lluvia ácida y el efecto invernadero.

Lo anterior muestra el gran rezago en la toma de decisiones, la inyección presupuestal y el retraso ancestral en materia educativa que sufre nuestro país y que de no tomar medidas urgentes contribuirá a intensificar nuestro retraso en la integración a una sociedad mundial cada vez más globalizada, interdependiente y con la urgencia de generar profesionales que se incorporen eficientemente y activamente a la comunidad mundial.

A continuación en la presente editorial se enumeran, en una visión personal de los problemas actuales, las posibles causas, que generan el estado actual de la educación, pensando más en una provocación que en la verdad absoluta. En una editorial posterior se propondrán, algunas posibles soluciones a una asignatura pendiente y que es necesario abordar a la brevedad, porque en el mejor de los casos una solución decidida e inteligente ahora, llevará a un cambio en quizá 20 años. Y dicha asignatura no puede esperar hasta que se le enmarque realmente como la de mayor importancia para un país que no quiere, ni debe quedar en el último lugar de sus pares.

Los problemas:

La deficiente formación de los profesores.

Los bajos salarios que obligan al multiempleo y a la falta de interés por la preparación, la actualización y la especialización.

Los profesores que no ejecutan estrategias que promuevan en sus alumnos el análisis, la reflexión y la construcción de su propio conocimiento.

El trabajo educativo que no genera una experiencia que entusiasme, motive y dirija al alumno.

Una intensa carga administrativa y extraescolar de los profesores, que no permite la concentración, el entusiasmo y la aplicación al trabajo académico esencial.

La impartición de las clases, que no son un espacio que promuevan la reflexión insertada en el mundo actual, con la diversidad de condiciones y circunstancias de vida, por lo que se tornan cansadas, aburridas y faltas de contexto.

La constante variación y experimentación de los programas educativos en donde no se aprovechan los resultados para orientar el cambio.

La mala aplicación y vigilancia de los programas educativos.

Los programas educativos que no promueven eficientemente el análisis, la reflexión y la construcción del conocimiento.

Las materias y temas no actualizados, los que en muchos casos, están disociados de los intereses de conocimiento de los alumnos.

Los medios de calificación y acreditación (exámenes), tienen como efecto principal: "clasificar", "etiquetar", discriminar, frustrar y excluir a los alumnos.

Los esquemas educativos que privilegian el aprendizaje pasivo, sobre la experiencia del aprendizaje participativo.

La mala preparación de los alumnos que se dirige principalmente a resolver exámenes y no a resolver problemas en contexto con la vida en el mundo actual.

Generación en las escuelas de "espacios inhóspitos", debido a la imposición de temáticas que resultan ajenas o disociadas de los intereses de los educandos y que no responden a las incertidumbres, las inquietudes, las frustraciones o las preocupaciones suscitadas por distintos ámbitos.

La enseñanza de contenidos como "actos de fe", desprovistos del sentido que asegura el conocimiento y que por lo mismo, suele olvidarse con rapidez.

La enseñanza que no estimula la iniciativa y no confiere sentido a la obtención activa de información a la par de una evaluación que se constituye en un recuento de la información (lo cual presupone solo un recuerdo) y que exhibe supuestas carencias y limitaciones del educando, sin permitir evaluar la recepción y el manejo de la información esencial y su integración al proceso cognoscitivo activo.

La desatención de los padres, donde los dos miembros de la pareja trabajan y sus tiempos en cantidad y calidad de atención al educando se reducen notablemente. Quedando los niños a merced de la televisión y los

videojuegos, sin regulación temporal y sin supervisión de contenidos, lo que ocasiona una pérdida de hábitos y valores que establezcan límites a su conducta y generen objetivos de vida.

La inmersión del educando en un mundo de facilidad, de rapidez, de falta de constancia, de intemporalidad, de ausencia de valores, de incertidumbre en el futuro. En un mundo consumista y lleno de distractores, con salidas fáciles y bombardeo continuo con sugerencias de "lograrlo todo con poco o ningún esfuerzo".

Deterioro y cambio de los valores universales y su repercusión en la formación y conservación personal, ya que se observa que es posible lograr "éxito" sin estudios y que el nivel de estudio no se correlaciona necesariamente con el "éxito". Generando la falta de proyecto de vida basado en la preparación académica profesional.

Lo anterior no es solo una ociosa lista más, es un llamado para no dejar de pensar en este problema, que cada año nos da un descalabro más, se agrega un problema más y se pierde un tiempo más y por ser ya una costumbre más, nos parece sin importancia, lejano y hasta ajeno. Es un grito que se ahoga en el tiempo y la indiferencia; es nuestra más importante asignatura nacional, aún pendiente.

Elia Patricia Ordaz Esquivel
Profesora de Educación Primaria
José Víctor Calderón Salinas
Editor en Jefe

LA NEUROQUÍMICA DEL ESTRÉS Y EL PAPEL DE LOS PÉPTIDOS OPIOIDES *

José Samuel Mucio-Ramírez

RESUMEN

Los factores emocionales y medio ambientales pueden ser determinantes para la generación del estrés, cuando éste es continuo se desestabiliza la homeostasis, se genera carga alostática y finalmente se producen patologías. Las manifestaciones fisiológicas debidas al estrés son el resultado de una compleja respuesta orquestada y codificada a nivel del sistema nervioso central, autónomo, endocrino y motor. Entre las moléculas estrechamente relacionadas con el control del estrés se encuentran las hormonas hipotalámicas, los péptidos opioides y neurotransmisores como el ácido γ -aminobutírico (GABA), glutamato y dopamina entre otras. Cuando los niveles de estrés son elevados, se provoca un desequilibrio en la neuroquímica de estas moléculas que actúan en receptores neuronales acoplados a proteínas G.

Aunque se cuenta con una farmacología relativamente eficiente para el manejo del estrés, existen otras alternativas que posibilitan su manejo y permiten mejorar la calidad de vida de quien lo sufre.

PALABRAS CLAVE: Estrés, alostasis, eje hipotálamo-pituitaria-adrenal, péptidos opioides.

INTRODUCCIÓN

Hans Selye (1907-1982) definió ante la Organización Mundial de la Salud el término *estrés* (del griego *stringere* = tensión) como la respuesta no específica del organismo a cualquier demanda del exterior. También consideró que algunas enfermedades como la hipertensión arterial y los trastornos emocionales o mentales eran la consecuencia de los cambios fisiológicos que resultan de un estrés prolongado.

Actualmente se manejan dos tipos de estrés, el distrés y el eustrés. El distrés se refiere a las consecuencias perjudiciales y dañinas por un estrés excesivo y el eustrés se aplica al estrés mínimo y es hasta cierto punto benéfico; dicho estrés se genera ante una situación en particular (1). Desde el punto de vista médico, el estrés es una respuesta adaptativa de los sistemas endocrino, nervioso, respiratorio, etc., a estímulos externos e internos (2).

En cualquier caso el estrés es una verdadera amenaza para la homeostasis (la tendencia de los organismos para mantener la estabilidad de componentes fisiológicos vitales como son el pH, la temperatura corporal, la tensión del oxígeno etc.) por lo que mantener en equilibrio sus valores en un rango estrecho es esencial para la supervivencia de los organismos (3). De acuerdo con McEwen (4), existen sistemas que participan de manera

ABSTRACT

Emotional and environmental factors could be determinants on stress generation. Continuous stress brakes homeostasis, raises the allostatic load and finally produces illness. Physiological manifestations of stress are the result of complex orchestrated responses codified at different levels, like the nervous, endocrine and motor systems. Among the tightly stress related molecules are the hypothalamic hormones, opioid peptides and neurotransmitters such as γ -aminobutyric acid, glutamate and dopamine. When the stress levels are increased, there is a disregulation in the neurochemistry of these molecules that take action in the neuronal receptors coupled to G proteins. Although the pharmacology of stress has relative efficiency there are several alternatives to manage the stress and improve the life quality.

KEY WORDS: Stress, allostasis, Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis, opioid peptides.

*Recibido: 19 de septiembre de 2006 Aceptado: 9 de octubre de 2007

Laboratorio de Histología y Microscopía Electrónica, Dirección de Neurociencias. Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz. Calzada México-Xochimilco # 101, Col. San Lorenzo Huipulco. México, D. F., C. P. 14370. Tel: 5655-2811, Fax: 5655-9980. Correo E: mucios@imp.edu.mx

importante durante el estrés, tales como el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HPA) y el sistema nervioso autónomo. El estrés continuo desestabiliza la homeostasis y como consecuencia se genera alostasis y carga alostática. El concepto de alostasis lo introdujeron Sterling y Eyer (5), y se refiere a los procesos integrativos y adaptativos necesarios para mantener la estabilidad total del organismo, es mucho más amplio que el de homeostasis ya que involucra al cerebro y al organismo en general. La alostasis se entiende mejor como el proceso que mantiene la homeostasis promoviendo la adaptación del organismo a corto plazo (6, 5). Por ejemplo, durante la actividad física hay una demanda energética, esto hace que se movilicen los almacenes de carbohidratos y grasas, también aumentan los niveles de catecolaminas y glucocorticoides ya que el cerebro y el organismo en general requieren de estas moléculas debido a esta demanda. Estas adaptaciones mantienen esencialmente el metabolismo y la temperatura corporal. El estrés promueve la liberación de catecolaminas y glucocorticoides que facilitan la producción de células del sistema inmune, estas células se dirigen a diferentes destinos del cuerpo en donde se requieren para luchar contra alguna infección o para producir una respuesta inmune. Cada uno de estos procesos adaptativos tiene un efecto en el organismo, cuando la alostasis trabaja en exceso genera un costo para el organismo, situación conocida como carga alostática (7). Por ejemplo, desde el punto de vista alostático, algunos autores proponen que la adicción al consumo y abuso de drogas, es la patología que resulta de la carga alostática sobre núcleos cerebrales como la amígdala, la parte capsular del núcleo *accumbens*, la parte basal de la estría *terminalis* y el haz cortico-

estriatal-talámico (6), en estos núcleos se desregula el sistema de recompensa debido al estrés crónico que sufren las neuronas. Entonces, la alostasis se refiere al proceso de adaptación de la homeostasis y la carga alostática se refiere al precio que pagan el cerebro y el cuerpo por ser forzados a la adaptación de situaciones psicológicas o fisiológicas que se acumulan a través del tiempo. Por lo tanto, la carga alostática generada por las situaciones estresantes, se ve reflejada en muchos estados patológicos y en la acumulación de daños tanto a nivel fisiológico como cerebral.

FISIOPATOLOGÍAS DEL ESTRÉS

Factores y fases de la generación del estrés. El estrés se clasifica atendiendo a los diferentes factores que lo generan, como

- 1.- Estrés emocional: cuando el individuo tiene pleitos, desacuerdos o conflictos que causen un cambio en su vida.
- 2.- Estrés por enfermedad: una gripa, una fractura, una infección, un dolor de espalda son cambios en la condición física. Se ha demostrado que la diabetes, la resistencia a la insulina, la hiperlipidemia, así como el estrés mental incrementan la variabilidad de la frecuencia cardiaca.
- 3.- Estrés por factores medio-ambientales: los climas demasiado fríos o calientes, al igual que la altitud de una ciudad pueden ser estresantes. La contaminación por toxinas o venenos también son estresantes ya que amenazan la homeostasis.
- 4.- El ejercicio extremo: una gran fuente de estrés es exigir demasiado al cuerpo, es el caso de los deportes extremos (triatlones, maratones etc.) en donde se incrementa la liberación de catecolaminas, hormona del crecimiento, cortisol, péptidos opioides y esteroides sexuales.

Para el desarrollo del estrés en general se proponen tres fases.

- 1.- Reacción de alarma. El organismo responde al sentirse amenazado por las circunstancias del medio ambiente. En el cerebro, que es el órgano principal de respuesta al estrés, se estimula al hipotálamo quien produce la hormona liberadora de la corticotrofina (CRH). La liberación de este factor se estimula también por noradrenalina, serotonina, acetilcolina y el neuropéptido Y. La modulación inhibitoria de esta liberación está dada por el cortisol principalmente además de GABA y dinorfina. La CRH liberada viaja por los capilares de sistema porta-hipofisiario y se une a receptores específicos en las células corticotrópicas de la glándula hipófisis, esto promueve la liberación de la hormona adreno-corticotrófica (ACTH) y de β -endorfina. La hormona ACTH viaja por el torrente sanguíneo hasta la corteza de la glándula suprarrenal, quien produce cortisona y corticosterona. A su vez otro mensaje viaja desde el hipotálamo hasta la médula suprarrenal y activa la secreción de adrenalina. Todas estas moléculas desempeñan un papel crucial ya que coordinan componentes endocrinos, inmunológicos y conductuales. Hay un delicado balance en la acción de la CRH que se inicia en el hipotálamo e involucra a las moléculas que estimulan o inhiben su secreción, posteriormente la estimulación de la corteza suprarrenal libera cortisol que viaja por el torrente sanguíneo y al unirse a receptores de las neuronas que producen CRH se inhibe el ciclo, lo que permite una modulación de esta etapa.
- 2.- Estado de Resistencia. Cuando un individuo es sometido en forma prolongada a la amenaza de agentes lesivos: físicos, químicos, biológicos o sociales puede adaptarse a dichas demandas de manera progresiva o puede ocurrir que disminuyan sus

capacidades de respuesta al estrés. Durante esta fase suele ocurrir un equilibrio dinámico u homeostático entre el medio interno y externo del individuo. Así, si el organismo tiene la capacidad para resistir mucho tiempo, su sistema de alostasis le permitirá adaptarse, en caso contrario sin duda alguna avanzará a la fase siguiente.

3.- Fase de agotamiento. La disminución progresiva de la respuesta de un organismo frente a una situación de estrés prolongado conduce a un estado de gran deterioro, es decir tiene una carga alostática, que conlleva a una pérdida importante de sus capacidades fisiológicas. Con ello sobreviene la fase de agotamiento en la que el sujeto suele sucumbir ante las demandas ya que se reducen al mínimo sus capacidades de adaptación e interrelación con el medio. Esto genera muchas de las patologías que se mencionan más adelante.

Existen diferentes enfoques experimentales para evaluar y medir el estrés, tales como: medición de las variaciones de la frecuencia cardiaca, monitoreo de la presión sanguínea o de la frecuencia respiratoria, evaluación del gasto energético, medición de la productividad, registro estadístico de la fatiga, electroencefalograma y medición de los niveles sanguíneos de catecolaminas, así como la cuantificación de algunos neurotransmisores mediante fluorimetría, cromatografía y radioinmunoanálisis.

Enfermedades generadas por estrés. Enfermedades por estrés agudo. Aparecen en los casos de exposición breve e intensa a los agentes lesivos, en situaciones de gran demanda que el individuo debe solucionar. Este tipo de estrés aparece en forma súbita, evidente, fácil de identificar y generalmente es reversible. Las enfermedades que habitualmente se observan son: úlcera

por estrés, estados de "shock", neurosis post-traumática, estado postquirúrgico (8).

Patologías por estrés crónico: La persistencia del individuo ante los agentes estresantes durante meses o años, produce enfermedades de carácter más permanente, con mayor importancia y también de mayor gravedad. El estrés genera inicialmente alteraciones fisiológicas, pero su persistencia crónica produce una carga alostática y finalmente serias alteraciones de carácter psicológico y en ocasiones falla de los órganos blanco vitales. Algunas de las alteraciones más frecuentes son: gastritis, insomnio, migraña, depresión, agresividad, trastornos sexuales, hipertensión arterial, infarto al miocardio, adicciones, trombosis cerebral, conductas antisociales y psicosis severas. (8).

Las personas responden de manera diferente al estrés, esto puede depender de las reacciones individuales, de los mecanismos de defensa que se ponen en marcha y de las circunstancias socio-ambientales de cada momento. Frente a una situación estresante, dependiendo de los recursos de que disponga la personalidad del individuo, ocurre el ajuste o la enfermedad. Existen aspectos que aumentan la vulnerabilidad de las personas al estrés, entre los que se conocen son los antecedentes genéticos de enfermedades psiquiátricas o de genes asociados con rasgos de gran impulsividad, la búsqueda de lo novedoso, las lesiones orgánicas cerebrales, la baja autoestima, los comportamientos introvertidos y aislados. Algunos rasgos que aumentan la resistencia al estrés son la ausencia de antecedentes genéticos de enfermedades mentales y minusvalías sensoriales, motoras y corporales, la edad adulta, la inteligencia normal o superior, la tolerancia a la ambigüedad o bien una autoestima alta (9, 10).

MECANISMOS NEUROQUÍMICOS DE RESPUESTA AL ESTRÉS

Las manifestaciones fisiológicas debidas al estrés son el resultado de una compleja respuesta orquestada y codificada a nivel del sistema nervioso central (SNC), autónomo, endocrino y motor. Si los estímulos son muy intensos, se repiten frecuentemente o persisten por mucho tiempo, se satura la capacidad de adaptación, se presenta una desregulación de la homeostasis orgánica y se genera una carga alostática.

Entre las principales áreas cerebrales involucradas está el hipotálamo que tiene alrededor de 12 núcleos de neuronas que sintetizan diferentes hormonas y péptidos. La amígdala envía eferencias al hipotálamo y a sus núcleos autonómicos del tallo cerebral, es la región en donde se identifican los estímulos aversivos y se procesa la expresión emocional. De manera indirecta el hipocampo está relacionado con las emociones porque se ha demostrado que la amígdala facilita la potenciación a largo plazo en el hipocampo, mecanismo básico de la memoria, por ello queda más claro la causa del rápido aprendizaje de eventos relacionados con emociones como el miedo y la angustia. El *locus coeruleus*, localizado en la región del puente del tronco cerebral, cerca del cuarto ventrículo es un núcleo cuyas neuronas contienen norepinefrina. Este núcleo es activado por la serotonina y la acetilcolina, se inhibe por el cortisol, la dinorfina y el GABA. La activación de este núcleo provoca la secreción de noradrenalina en la corteza cerebral, en el hipotálamo, en la médula espinal y en el sistema simpático periférico contribuyendo a las manifestaciones conductuales del alertamiento y la ansiedad.

El eje hipófisis-pituitaria-adrenal o HPA es el sistema neuroendócrino involucrado en la mediación de la respuesta al estrés. La CRH (hormona liberadora de corticotropina) regula y controla de manera muy importante este eje. Otras hormonas hipotalámicas involucradas en la respuesta al estrés son la vasopresina y el PACAP (péptido de la pituitaria activador de la adenilato ciclasa). Entre algunas moléculas moduladoras de la CRH están los péptidos opioides (encefalinas, endorfinas, nociceptina). Los mecanismos de señalización involucrados incluyen la activación de receptores acoplados a proteínas G, estimuladores de la fosfolipasa C (Gq) y de la adenilato ciclasa (Gs) e inhibitoras de ésta última (Gi) que producirán segundos mensajeros como el AMP cíclico, Ca^{++} y diacil glicerol (6).

Neuroanatomía de las neuronas CRH.

La hormona CRH se produce en las neuronas de la zona medial parvicelular del núcleo paraventricular del hipotálamo (PVN). Estas neuronas mandan sus proyecciones a la porción externa de la eminencia media, en donde se libera la CRH, las células blanco de la CRH son los corticotropos del lóbulo anterior de la glándula hipófisis, los cuales a su vez poseen receptores para la CRH (Fig. 1). El PVN es una importante zona integradora del hipotálamo, recibe aferencias del tallo cerebral, del puente, del sistema límbico y del hipotálamo. Las entradas del tallo cerebral son vías adrenérgicas (epinefrina y noradrenalina) involucradas en la transmisión de la información visceral y mediadoras del estrés. Las proyecciones noradrenérgicas que llegan al PVN surgen desde el núcleo del tracto solitario, del grupo de células A2, del grupo A1 de la médula ventrolateral y del *locus coeruleus*. Las entradas del cerebro

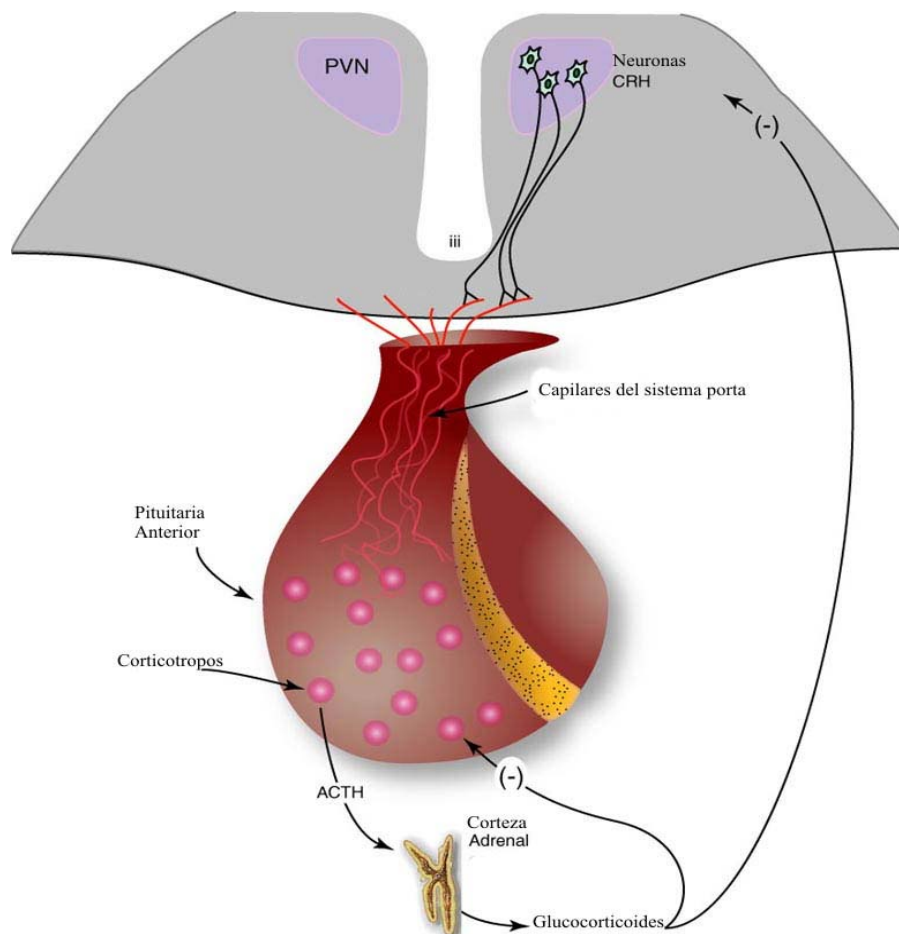


Figura 1. Representación esquemática del eje hipófisis-pituitaria-adrenal mostrando las neuronas CRH en el núcleo paraventricular que proyectan sus terminales neuronales hacia la zona externa de la eminencia media. Esto sucede bilateralmente, aunque solo se muestran las proyecciones unilaterales. El CRH viaja por la vasculatura portal para estimular la síntesis y liberación de ACTH de los corticotropos. La ACTH actúa en la corteza adrenal promoviendo la biosíntesis y liberación de glucocorticoides. Estos son liberados en la circulación general para mediar las respuestas al estrés y el "feedback" negativo entre los corticotropos de la pituitaria y las neuronas CRH del PVN. PVN, núcleos paraventricular; CRH, hormona liberadora de corticotropina; iii, tercer ventrículo; ACTH, hormona adrenocorticotrófica.

medio involucran grupos neuronales del rafe, los cuales son de naturaleza serotoninérgica. El hipotálamo mismo manda señales al PVN, este grupo de conexiones proporcionan la información del estado motivacional del animal o transmiten otras señales específicas del estrés. El asa de retroalimentación negativa CRH-ACTH-glucocorticoides mantiene un delicado balance. En respuesta al estrés, se genera un incremento en la actividad del eje HPA, en ese momento el sistema es regulado a la baja rápidamente, desde los gluco-

corticoides hasta la glándula hipófisis, causando una modulación que disminuye a los glucocorticoides a sus niveles basales. Este delicado equilibrio se rompe por la influencia de los factores estresantes mencionados previamente.

La vasopresina se produce en las neuronas magnocelulares del núcleo paraventricular, esta hormona actúa de manera sinérgica con la CRH. La respuesta inmediata de las células de los corticotropos ante el estrés es la síntesis y liberación de ACTH, ésta se libera en la circulación sanguínea y actúa a nivel de la corteza suprarrenal

estimulando a los receptores que a su vez promueven la producción y liberación de glucocorticoides como el cortisol. En general, el papel del cortisol es movilizar los almacenes de energía para mantener el tono cardiovascular y actúa en estrecha coordinación con el sistema nervioso autónomo para ejercer sus efectos, cuando el cortisol se incrementa por efectos del estrés, se eleva la frecuencia cardíaca, la presión sanguínea y se altera el flujo sanguíneo (6). Nuestro grupo demostró que la inmunoreactividad al neuropéptido PACAP y a su receptor, el PAC1 (acoplado a proteína Gs), se incrementa en las neuronas del PVN y del núcleo supraóptico como consecuencia del estrés a la deshidratación, lo que sugiere que el péptido y el receptor participan en la homeostasis hídrica (11, 12).

PEPTIDOS OPIOIDES EN LA REGULACION DEL ESTRÉS

Los opioides endógenos contribuyen a la modulación y regulación del eje HPA, incluyendo la respuesta al estrés. Los péptidos opioides no solo disminuyen las respuestas endocrinas y autónomas del estrés inducido, sino que también estimulan estos sistemas efectores cuando no hay estrés. Vythilingam y col., (13) demostraron que los niveles plasmáticos de cortisol se elevaron en adultos voluntarios sanos que recibieron el antagonista opioide naloxona, en comparación con aquellos que tomaron placebo.

Se han identificado 4 familias distintas de péptidos opioides endógenos: las encefalinas (leu-encefalina, met-encefalina, octapéptido etc.), dinorfinas (dinorfina A 1-17, dinorfina A 1-13, dinorfina A 1-8, etc.), endorfinas (β -endorfina, α -endorfina, etc.) y recientemente la nociceptina/orfanina-FQ (N/OFFQ). Cada familia deriva de un polipéptido precursor diferente y tiene una distribución anatómica característica. Los opioides

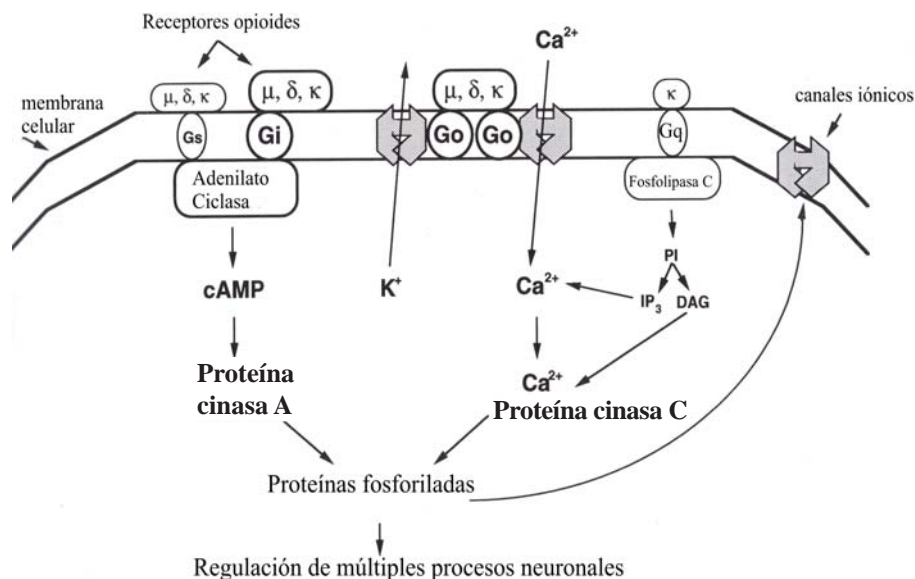


Figura 2. Ilustración esquemática de las vías de transducción de señales reguladas por los opioides. Las vías bien establecidas para la transducción de señales de los opioides se muestra en negritas que incluye la activación de receptores que interactúan con proteínas Gi/Go, para inhibir la adenilato ciclasa (y subsecuentemente la inhibición de la proteína cinasa A) así como la activación de los canales de potasio (K^+) e inhibición de canales de Ca^{2+} (con la subsecuente inhibición de proteínas cinasas dependientes de calcio). Se ha reportado que en algunos tipos de células, los opioides pueden incrementar la adenilato ciclasa vía acoplamiento a proteínas Gs, presumiblemente vía Gq y fosfolipasa C, el sistema fosfatidilinositol y subsecuentemente diacilglicerol (DAG), inositol trifosfato (IP_3) y proteína cinasa C.

endógenos actúan de manera estereoespecífica sobre los receptores μ , δ , κ y ORL-1 (Fig. 2) situados principalmente en el SNC y la médula espinal, estos receptores están acoplados a proteínas Gi que inhiben la actividad de la adenilato ciclasa (3). La participación de los péptidos opioides en áreas cerebrales relacionadas con el estrés es diversa. En las láminas I y II de la médula espinal participan en la percepción del dolor. En el *locus coeruleus* los péptidos opioides intervienen en la euforia y causan la sensación de bienestar. En estructuras del sistema límbico, como la habénula, el núcleo interpeduncular y el fascículo retroflexo, intervienen en el comportamiento emocional, en el estado afectivo y también en el desarrollo de la euforia (14). En el núcleo parabraquial los péptidos opioides participan en la producción de euforia. En el diencefalo actúan en el infundíbulo de la hipófisis modulando

las funciones endocrinas en núcleos de relevo de la transmisión del dolor y nocicepción, particularmente en la parte lateral medial del núcleo talámico, en la lámina talámica interna y externa, en el núcleo intralaminar y en el núcleo paraventricular del tálamo. En el subfornix y en el núcleo intersticial de la *estría terminalis* los opioides intervienen con efectos endocrinos (14, 15).

La β -endorfina. Existe una relación estrecha entre el estrés y la liberación de la β -endorfina. Se demostró que en respuesta al estrés la β -endorfina y la ACTH se liberan de los núcleos arcuato, *septum*, *accumbens*, gris periacueductal, glándulas adrenales, así como de los lóbulos intermedio y anterior de la hipófisis (16). Existe una relación entre ansiedad, estrés y opioides endógenos como se ilustra en estudios de estrés psicológico realizados a sujetos adultos con desorden de ansiedad.

Estos presentaron niveles plasmáticos de β -endorfina basales altos comparados con los sujetos control, los que disminuyeron más en los ansiosos que en los controles después de la prueba. Hay reportes del estrés provocado por el ejercicio físico extenuante en donde los niveles plasmáticos de β -endorfina se incrementaron significativamente en hombres adultos sanos luego de someterlos a intervalos cortos de 2 min de ciclismo a máxima potencia (17).

La nociceptina/orfanina-FQ. La N/OFQ, miembro de la familia de los opioides, participa en la modulación neuroendocrina, así como en el estrés. La N/OFQ actúa como ansiolítico en ratas y ratones ya que la administración intracerebroventricular (i.c.v.) del péptido (0.1 a 3 nm), reduce la conducta defensiva ante estímulos estresantes como son la variación en la intensidad de luz, los laberintos, la privación de alimento, etc. El grupo de Kôster generó ratones knockout para la N/OFQ y observó que en los homocigotos hay una alteración del comportamiento afectivo (usando la prueba de nado forzado) cuando se exponen a pruebas de estrés y ambientes amenazantes. Lo que sugiere que el sistema N/OFQ se activa principalmente en situaciones de alto estrés y que funciona como modulador en los procesos neurobiológicos de la respuesta ante estímulos dañinos (18, 19).

Las encefalinas. La amplia distribución de las encefalinas en el sistema límbico (amígdala extendida, corteza del cíngulo, corteza entorrinal, *septum*, hipocampo e hipotálamo) es consistente con el papel modulador en las respuestas al estrés. Las encefalinas y sus receptores ejercen su acción en el eje HPA y en el sistema nervioso autónomo, que son los 2 principales sistemas efectores que mantiene la homeostasis durante la exposición a los estresantes. Las encefalinas

modifican la síntesis y la liberación del factor liberador de la corticotrofina o CRH (20). La regulación endocrina de las encefalinas ocurre particularmente en el núcleo paraventricular hipotalámico, uno de los centros más importantes en la coordinación del sistema del estrés, en él existen numerosas neuronas que estimulan a la CRH y que controlan la liberación de ACTH a nivel de la adenohipófisis (6). El PVN recibe también aferencias de estructuras que están involucradas en el comportamiento, emociones y sistema cardiovascular (6). La liberación de encefalinas a diferentes niveles del SNC disminuye el impacto de las respuestas al estrés por la atenuación del orden de las respuestas fisiológicas incluyendo estados emocionales y afectivos. La administración de naloxona, incrementa la respuesta del eje HPA en animales crónicamente estresados comparados con controles sin estrés, lo que sugiere que el impacto del sistema opioide se incrementa debido a la pre-existencia del estrés crónico. Por lo que varios autores aseguran que las encefalinas representan el sistema modulador de mayor relevancia en la adaptación de un organismo al estrés crónico.

DAÑOS A NIVEL DEL SNC OCASIONADOS POR ESTRÉS

La exposición crónica al cortisol y a la corticosterona causa daños, principalmente en el hipocampo, el cual tiene abundancia de receptores a glucocorticoides. Se ha demostrado que la elevación de los niveles de glucocorticoides altera la morfología de los árboles dendríticos del área CA3 y esto lleva a la neurodegeneración y eventualmente a la muerte de sus células. El estrés agudo puede entonces, interferir con la habilidad de un organismo para aprender, el estrés crónico esta correlacionado con un déficit de la memoria espacial. La amígdala desempeña un papel

primordial para el aprendizaje emocional y para la manifestación de los efectos relacionados con el estrés tanto a nivel conductual como en el funcionamiento hipocámpico. La lesión o la supresión farmacológica de la amígdala previenen los erosión gástrica, la analgesia, o la conducta ansiosa inducidos por el estrés, bloquea el efecto modulador de drogas sobre la memoria dependiente del hipocampo y deteriora la potenciación a largo plazo in vivo. Los receptores N-metil D-aspartato de la amígdala parecen implicados en la regulación de la potenciación a largo plazo. El hipocampo tiene una gran concentración de receptores a glucocorticoides, así como de receptores a mineralocorticoides. El hipocampo modula la liberación de glucocorticoides por medio de su efecto inhibitorio sobre el eje talámo-hipófisis-adrenal. Estos hallazgos apuntan a que el hipocampo es una región clave para integrar la respuesta cognitiva, neuro-hormonal y neuroquímica a la emoción y al estrés (21).

Otros neuromoduladores parecen tener un papel relevante en la mediación de los efectos del estrés en la plasticidad sináptica. En el sistema serotoninérgico, se ha observado que el estrés eleva la serotonina en el hipocampo, y la administración exógena de serotonina puede inhibir la potenciación a largo plazo en el área CA1. El receptor NMDA, puede estar participando en esta potenciación a largo plazo ya que los antagonistas NMDA bloquean los efectos del estrés en el aprendizaje y en el deterioro de la potenciación a largo plazo mediado por glucocorticoides.

ESTRÉS Y EL SISTEMA INMUNE

La presencia de receptores para las hormonas y la conexión funcional entre el sistema linfóide y el nervioso revela la existencia de una comunicación entre los sistemas

inmune, nervioso y endocrino (22). Se ha demostrado que diferentes agentes estresantes tienen efectos en los niveles de las hormonas del estrés y citocinas elevando interleucinas IL-1, IL6 y β -endorfina. Los glucocorticoides también modulan la respuesta inmune e inhiben la producción de citocinas; el cortisol es un potente antiinflamatorio e inmunorregulador que inhibe la producción de la interleucina IL1.

La sobreproducción o la subproducción de cortisol puede causar la hiperactividad o la hipoactividad del sistema inmune (4), lo cual tiene importantes implicaciones en los estados depresivos ya que abaten o aumentan el sistema inmune. El cortisol puede interactuar con las hormonas tiroideas, interviniendo en la función reproductiva y en el crecimiento. El estrés crónico suprime la hormona del crecimiento y las funciones reproductivas causando hipertiroidismo. Evidencias experimentales confirman que diferentes formas de estrés físico pueden estimular alteraciones en el sistema inmune, el ejercicio físico es un tipo de estresante útil en el laboratorio ya que es reproducible, cuantificable y se puede modificar experimentalmente. El ejercicio muscular intenso y agudo aumenta las concentraciones plasmáticas de las hormonas involucradas en el estrés como el cortisol, la ACTH, la hormona del crecimiento, la testosterona, los estrógenos así como la epinefrina, la norepinefrina y el péptido opioide β -endorfina (23).

FARMACOLOGÍA DEL MANEJO DEL ESTRÉS

La exposición a una situación continua potencialmente estresante es determinante para el desarrollo de los

trastornos por estrés postraumático y crónico, de manera que se utilizan fármacos destinados al tratamiento de la ansiedad o ansiolíticos. A partir de la década de 1960 se usan las benzodiacepinas, que son sustancias depresoras del sistema nervioso central, con propiedades ansiolíticas a dosis relativamente bajas y con efectos sedativos-hipnóticos (inductores del sueño) a dosis altas. También se utilizan los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS) que elevan la función de la serotonina; los dos grupos son igualmente efectivos pero provocan diferentes efectos secundarios (3). Otra de las familias de los sedantes son los barbitúricos tales como: fenobarbital, butalbitol y seconal. Entre los tricíclicos se usan: amitriptilina, nortriptilina, imipramina, desipramina, trimipramina, protriptilina y opipramol. Algunos elevan la serotonina más que la dopamina o noradrenalina. Estos fármacos ayudarán a dormir, para sentirse con más energía y gozar de la vida. Entre los ISRS, más usados está la fluoxetina (Prozac), que se ha demostrado que previene el estrés inducido a ratas inmovilizadas (24). El Prozac es apropiado para alguien que se encuentra ansioso, deprimido, letárgico o carente de energía. Todos los medicamentos son igualmente efectivos pero tienen algún efecto secundario (3). Sin embargo, el tratamiento del estrés es complicado ya que aparte de considerar los aspectos neurobiológicos susceptibles de ser modificados con las drogas, hay que tomar en cuenta que se puede corregir mediante psicoterapia los aspectos que involucran a la esfera social y afectiva del paciente.

PERSPECTIVAS Y CONCLUSIÓN

El estrés involucra, como se ha visto, una complejidad de interacciones

entre el sistema nervioso central, autónomo, endocrino e inmune. Implica además, mantener el delicado equilibrio de la homeostasis y alostasis del cuerpo y evitar la carga alostática que no depende totalmente del mismo individuo. No todas las personas responden igual al estrés, pues esta depende principalmente de los delicados y complejos mecanismos neuroquímicos de defensa que se ponen en marcha. Sin embargo existen alternativas para afrontar el estrés de forma positiva, en primer lugar hay que conocer aquello a lo que se enfrentan los individuos, las exigencias y las posibles consecuencias del mismo. Es importante valorar las propias aptitudes y las actitudes a la hora de seleccionar el modo de vida y las actividades de los individuos. Una manera de evitar el estrés o hacerlo más tolerable es llevando una vida sana, una dieta equilibrada, realizando ejercicio físico, mantener una situación afectiva estable y satisfactoria. Existen evidencias confirmadas de que las técnicas de relajación, meditación, yoga etc., promueven la liberación de endorfinas, que dan la sensación de bienestar, de manera que son herramientas útiles que pueden ayudar a los individuos a mantenerse tranquilos en situaciones estresantes o de intranquilidad, así que por que no unirse a una de ellas si lo primero es nuestra salud mental y en nuestras manos está su manejo y control.

Agradecimientos: a la Dra. Maria Eugenia Márquez por su asesoría en la elaboración de este trabajo, al apoyo constante de la Dra. Martha León-Olea, a la DGEP de la UNAM, al CONACYT y al Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente Muñiz".

REFERENCIAS

1. Selye H (1998) A syndrome produced by diverse nocuous agents. 1936. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 10(2):230-1.
2. Wilson J, Foster D (1985) Textbook of endocrinology, 7th ed. W. B. Saunders Co, p 1413.
3. Hardman J (1996) The pharmacological basis of therapeutics. Mc Graw Hill, New York.
4. Mcewen BS, Stellar E (1993) Stress and the Individual: Mechanisms leading to disease, *Arch Intern Med.* 153:2093-2101.
5. Sterling P, Eyer J. Allostasis (1988) A new paradigm to explain arousal pathology. En: Fhiser Sm Reason J (eds), *Handbook of Life Stress, Cognition and Health.* Chichester, John Wiley, p 629-649.
6. Squire Larry, Floyd E. Bloom, Susan K. McConnell, James L. Roberts, Nicholas C. Spitzer, Michael J. Zigmond (2003) *Fundamental Neuroscience*, 2nd Ed. Academic Press, p 1426.
7. Mcewen BS, T Seeman (1999) Protective and damaging effects of mediators of stress: Elaborating and testing the concepts of allostasis and allostatic load, *Ann New York Acad of Sci.* 896:30-47.
8. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM IV) (2000), Fourth Edition, Text Revision. Washington, DC, American Psychiatric Association. PAG
9. Cloninger CR, Adolfsson R, Svrakic NM. (1996) Mapping genes for human personality. *Nat Genet.* 12(1):3-4.
10. Orlandini Alberto (1999) El estrés, qué es y cómo evitarlo, 2da. Edición Fondo de Cultura Económica, p 220.
11. Leon-Olea M, Mucio-Ramírez S, Sánchez-Islas E, Angeles-Escudero A, Gillard E, Currás-Collazo M (2002) Immunoreactivity to PACAP and NADPH-d activity are increased in osmotic activated rats. 32nd Annual Meeting Society for Neuroscience, Orlando, Fla. *Neurosci Abs.* 175.7.
12. Gillard Elizabeth, Leon-Olea Martha, Mucio-Ramirez Samuel, Coburn Cary, Sanchez-Islas Eduardo, De Leon Aimee, Bauce Lorenzo, Pittman Quentin, Curras-Collazo Margarita (2006) A novel role for endogenous Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide (PACAP) in the magnocellular neuroendocrine system. *Endocrinology.* 147(2):781-803.
13. Vythilingam M, Anderson GM, Owens MJ, Halaszynski TM, Bremner JD, Carpenter L, Heninger GR, Nemeroff CB, Charney DS (2000) Cerebrospinal fluid corticotropin-releasing hormone in healthy humans: effects of yohimbine and naloxone. *J Clin Endocrinol Metab.* 85:4138-45.
14. Vaccarino A, Olson G, Olson R, Kastin A (1999) Endogenous Opiates:1998. *Peptides.* 20:1527-74.
15. Villarejo-Díaz M, J Ramón (2000) Farmacología de los agonistas y antagonistas de los receptores opioides. *Educación e Investigación Clínica.* 1(2):106-137.
16. Levinthal C (1988) *Meessenger of paradise: opiates and the brain*, doubleaday, New York.
17. Marquet P, Lac G, Chassain AP, Habrioux G, Galen FX. Dexamethasone in resting and exercising men (1999) I. Effects on bioenergetics, minerals, and related hormones. *J Appl Physiol.* 87:175-182.
18. Griebel G, Perrault G, Sanger D (1999) Orphanin FQ, a novel neuropeptide with anti-stress-like activity. *Brain Res.* 836:221-224.
19. Mucio-Ramírez S, Miller-Pérez C, Sánchez-Islas E, León-Olea M (2001) El Receptor ORL-1 y su Péptido Endógeno, la Nociceptina/Orfanina FQ. *Nuevos Miembros de la Familia de los Opioides.* *Salud mental.* 24(6):43-54.
20. Szekely JI (1990) Opioid peptides and stress. *Crit Rev Neurobiol.* 6(1):1-12.
21. Newcomer, J.W (1994) Glucocorticoid-induced impairment in declarative memory performance in adult human. *J Neurosci.* 14:2047-53.
22. Madden K, Felten DL (1995) Experimental basis for neural-immune interactions. *Physiol Rev.* 75:77-106.
23. Rabin BS, Moyna MN, Kusnecov A, Zhou D, Shurin MR (1996) Neuroendocrine effects of immunity. En: *Exercise and Immune Function.* Editores: L. Hoffman-Goetz. Boca Raton, FL: CRC, p 21-38.
24. Gambarana C, Ghiglieri O, Taddei I, Tagliamonte A, De Montis MG (1995) Imipramine and fluoxetine prevent the stress-induced escape deficits in rats through a distinct mechanism of action. *Behav Pharmacol.* 6(1):66-73.

SORPRESAS NUCLEARES: NUEVAS PERSPECTIVAS DE LA DINÁMICA DEL Ca^{2+} INTRACELULAR*

Verónica Morales Tlalpan, Carlos Saldaña y Mauricio Díaz Muñoz

RESUMEN

El aumento de calcio intracelular (Ca^{2+}_i) es una señal que regula una gran variedad de procesos celulares, tales como la contracción, la morfogénesis, el crecimiento, la apoptosis, la expresión génica, el metabolismo, la secreción y la fertilización entre muchos otros. Para llevar a cabo estas respuestas, la concentración de Ca^{2+}_i debe ser finamente regulada. Esta regulación se lleva a cabo por canales iónicos, bombas y proteínas que unen Ca^{2+} en diferentes compartimentos celulares. Entre los depósitos intracelulares mejor descritos en el manejo de Ca^{2+} se encuentran el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi. La mitocondria es otro organelo con capacidad transitoria de manejo de Ca^{2+} . Sin embargo, el núcleo se ha convertido recientemente en centro de intensa investigación por su capacidad de movilizar Ca^{2+} y la presencia en sus membranas de todas las proteínas que intervienen en la dinámica del Ca^{2+}_i . Se ha reportado que el Ca^{2+} nuclear puede influir en procesos celulares entre los que se incluyen el control de la expresión de genes, el procesamiento de intrones, el ensamblaje de la envoltura nuclear y el tránsito bidireccional de moléculas desde y hacia esta estructura. La regulación del calcio nuclear es un campo emergente cuyos avances recientes serán revisados de manera breve.

PALABRAS CLAVE: Núcleo, Ca^{2+} , lípidos, envoltura nuclear, retículo nucleoplásmico fosfoinosítidos.

ABSTRACT

The increase in the intracellular calcium (Ca^{2+}_i) is a signal that regulates several cellular processes such as muscle contraction, morphogenesis, growth, apoptosis, gene expression, metabolism, secretion, fertilization, among others. To attain these responses, the intracellular calcium concentration ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) is finely regulated by ion channels, ion pumps and Ca^{2+} binding proteins located in diverse compartments. Two organelles that function as Ca^{2+} sources are the endoplasmic reticulum and Golgi apparatus. Mitochondria capture and release Ca^{2+} transiently under physiological conditions to regulate ATP production. Recently, cell nucleus has become the focus of intense research because nucleus appears to be more complex than previously thought, for instance, nuclear membranes present different proteins involved in Ca^{2+} mobilization. It is now clear that changes in nuclear Ca^{2+} regulate numerous processes such as gene expression, alternative RNA splicing, nuclear envelope modification and molecular bidirectional traffic. We have now the tools and the experimental approaches to start unraveling the complexities of nuclear events.

KEY WORDS: Nucleus, Ca^{2+} , lipids, nuclear envelope, nucleoplasmic reticulum, phosphoinositides.

ANATOMÍA NUCLEAR

El núcleo fue una de las primeras estructuras celulares en ser identificadas al ser descrito por Franz Bauer en 1802, aunque su presencia se formalizó con la obra de Robert Brown hasta 1831. Sin embargo, la importancia de su papel fisiológico

tardó mucho tiempo en apreciarse. Ya en la segunda mitad del siglo pasado, se aceptaba en los libros de texto que el núcleo era el principal depositario del material genético, así como que tenía un importante papel en la división celular, la migración, la diferenciación, la fertilización y la

polarización celular. En los últimos años, la visión que se tiene del núcleo ha evolucionado, gracias a progresos en campos como la biología celular y molecular, así como con el advenimiento de técnicas de microscopía óptica que cuentan con mayor sensibilidad a la detección de fotones

*Recibido: 16 de marzo de 2007 Aceptado: 9 de octubre de 2007

Departamento de Neurobiología Celular y Molecular. Instituto de Neurobiología, Campus UNAM-Juriquilla, Querétaro, México. CP. 76230. Tel/Fax: (442) 238-1035 Correo E: vmtlalpan@gmail.com

y por ende, una mayor resolución espacial y temporal. Por lo tanto, actualmente se reconoce al núcleo como un organelo altamente compartimentalizado y en extremo dinámico (1).

El núcleo está constituido por una doble membrana o envoltura nuclear (EN) rica en lípidos y proteínas, y que contiene al nucleoplasma (Fig. 1 A). La EN se divide en membrana nuclear externa (MNE) y membrana nuclear interna (MNI). La MNE es continuación del retículo endoplásmico (RE), contiene ribosomas y lleva a cabo la síntesis de proteínas. La MNI interacciona con ciertos segmentos de la cromatina y forman una red llamada lámina nuclear. La MNE y la MNI están separadas por un espacio de 25-45 nm y se fusionan en regiones específicas en donde se encuentran los complejos del poro nuclear (Fig. 1 B). El poro nuclear está compuesto aproximadamente por 50 tipos de proteínas diferentes, llamadas nucleoporinas. Cada canal nuclear contiene múltiples de 8 de cada una de las nucleoporinas y se estima que cada macrocomplejo está formado por más de 1000 proteínas en total (2) (Fig. 1 B). Esta complejidad se reduce debido a que las nucleoporinas presentan motivos estructurales comunes como los solenoides tipo α , propelas tipo β y repeticiones de fenilalaninas-glicinas (FG) (3). La parte central del ensamblaje de las nucleoporinas forma un canal acuoso de 10 nm de diámetro y 45 nm de longitud que permite el transporte de macromoléculas entre el citoplasma y el nucleoplasma de 50 kDa aproximadamente (2). Sin embargo, este transporte presenta dos interesantes características. Las moléculas neutras que no interactúan con las repeticiones FG de las nucleoporinas, no ingresan fácilmente al interior nuclear, mientras que las moléculas que sí interactúan con las repeticiones FG, son capaces de translocarse rápidamente al interior

nuclear a altas velocidades. Los poros nucleares hasta ahora descritos presentan propiedades de permeabilidad similares (3).

En el pasado se pensaba que el interior nuclear o nucleoplasma, era uniforme y simplemente contenía el material genético. Sin embargo, recientemente se ha demostrado que el nucleoplasma está organizado en dominios funcional y morfológicamente diferenciados (Fig. 1 A y C) (4). En estos dominios se llevan a cabo procesos como la replicación, la reparación y la transcripción del material genético (4, 5 y 6). Una gran variedad de proteínas con funciones altamente especializadas se localizan en estos dominios, tales como: 1) Complejos multimoleculares involucrados en la transcripción, 2) Proteínas que interactúan con el citoesqueleto a través de la unión a actina, 3) Cinasas y fosfatasa que modulan la actividad de ciclinas e influyen en el ciclo celular, 4) Factores involucrados en el procesamiento del ARN "splicing", 5) Pequeñas ribonucleoproteínas (snRPs) que participan en la maduración del ARN y 6) Enzimas involucradas en la replicación, la reparación y la recombinación del ADN (4).

En 1997 Fricker demostró con microscopía electrónica, que los núcleos de diversos tipos celulares contenían invaginaciones de la envoltura nuclear. El grupo de Nathanson en el 2003 describió la presencia de una red tubular intranuclear en núcleos provenientes de hepatocitos. El aspecto de esta red se visualizó a partir de las reconstrucciones tridimensionales de las imágenes obtenidas con microscopía confocal de 2 fotones. En la actualidad, se acepta que en el interior del núcleo está dispuesta una serie de canales que se extienden por todo el organelo y que hacen contacto con la membrana nuclear externa, y que se conoce como retículo nucleoplásmico (RN) (5, 7).

Entre los dominios o estructuras intranucleares que destacan en el núcleo encontramos a los "speckles" que son estructuras electrodensas al microscopio electrónico de forma irregular localizadas en los espacios intercromáticos y en regiones con poco ADN y enriquecidas con factores que procesan el ARN. Estas estructuras intranucleares están comúnmente acompañadas por los "para-speckles", que son menos abundantes y de menor tamaño y cuya función se ha asociado con la transcripción. Otras estructuras intranucleares son los cuerpos de Cajal que contienen ribonucleoproteínas involucradas en el procesamiento del ARN y que son abundantes en células con una alta actividad proliferativa; los gemelos de los cuerpos de Cajal, asociados también con el procesamiento del ARN; los gránulos intercromáticos constituidos por 20-25 gránulos, involucrados en la transcripción, en el procesamiento de ARN mensajero y que están enriquecidos con ARN polimerasa II; las fibrillas pericromáticas, que son sitios de transcripción activa que coinciden con espacios donde se ha detectado la incorporación de uridina tritiada; los cuerpos promielocíticos de leucemia (llamados así porque están relacionados con la leucemia pro-mielocítica aguda), que se localizan en número de 5-30 en zonas donde se recluta ADN de cadena sencilla (ssADN) para reparar al ADN que ha sufrido daño (1, 4).

LÍPIDOS NUCLEARES

Las membranas nucleares, como todas las membranas biológicas están constituidas de lípidos y proteínas siguiendo el modelo del mosaico fluido propuesto por Singer en 1972. En el núcleo se han reportado la presencia de fosfolípidos que usualmente se encuentran en otras membranas biológicas, así como la presencia de colesterol. Se ha

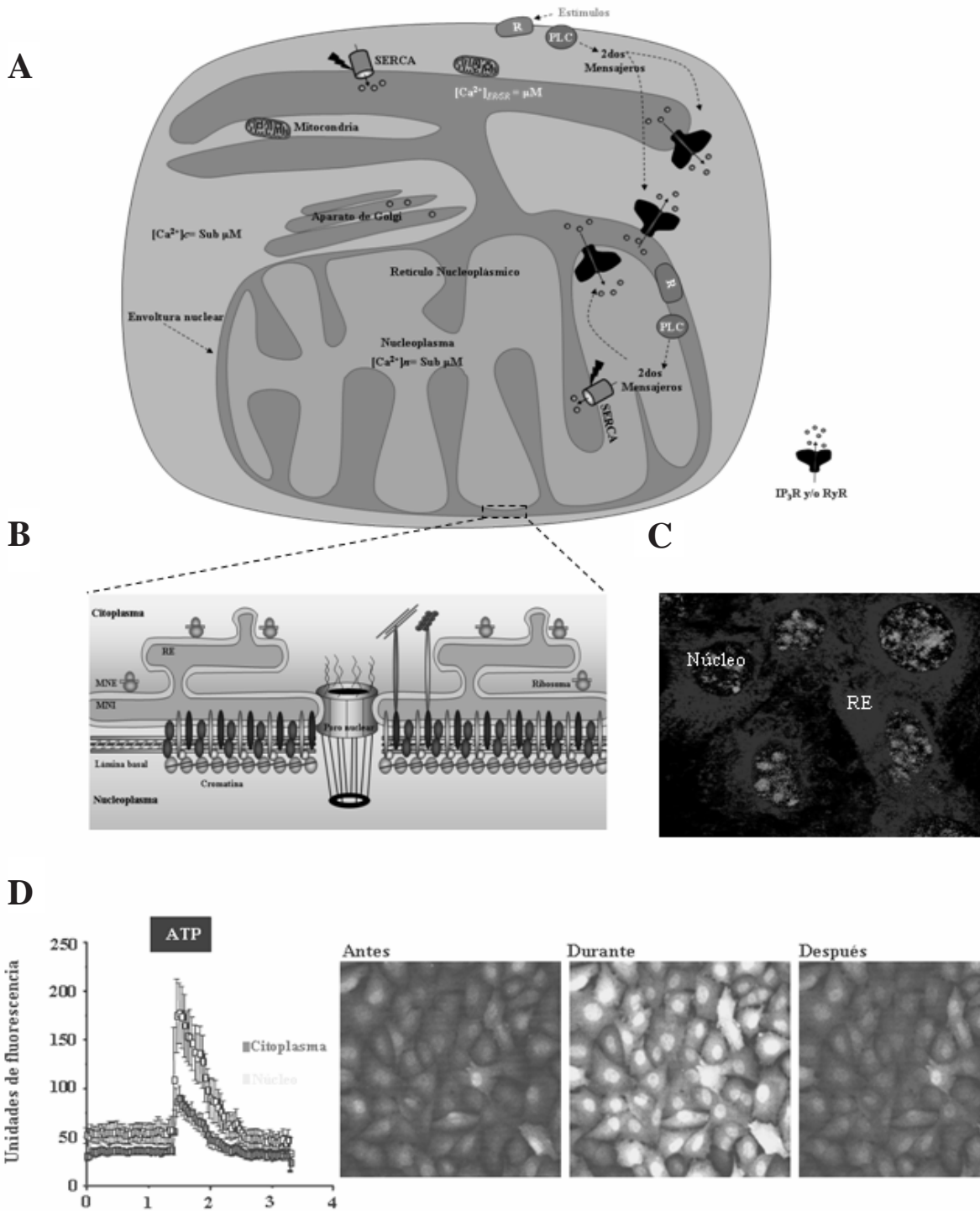


Figura 1. Anatomía del Núcleo y Movilización de Ca²⁺ Nuclear. *Panel A.* Esquema de una célula en el que se indican los diferentes compartimentos de Ca²⁺: mitocondria, aparato de Golgi, retículo endoplásmico, y el núcleo (envoltura nuclear y nucleoplasma). Se hace referencia a la concentración de Ca²⁺ que existen en cada organelo, lo cual es indicado por el código de niveles de intensidad de gris. De las algunas de las proteínas involucradas con el manejo de Ca²⁺ como son: SERCA, receptor de IP₃ y de rianodina. *Panel B.* Representación esquemática de las membranas nucleares y del poro nuclear. La membrana nuclear externa (MNE) es una continuación del retículo endoplásmico (RE) y contiene ribosomas adosados; la membrana nuclear interna (MNI) forma parte de la lamina nuclear e interacciona con la cromatina; el poro nuclear está formado por un anillo citoplásmico y otro nuclear. *Panel C.* Imagen correspondiente de una célula de la granulosa proveniente de folículos ováricos vista con un microscopio confocal. En la imagen, la señal central intensa corresponde al marcador nuclear TO-PRO 1, mientras que la señal de menor intensidad está asociada a la presencia del receptor de rianodina. *Panel D.* Se muestra una gráfica con la movilización de calcio citoplásmica (gris oscuro) y nuclear (gris claro) promovida por ATP en células de la granulosa provenientes de folículos ováricos. Se destaca que la señal del núcleo es mayor. A la derecha se aprecian imágenes de microscopía confocal correspondientes a los tiempos de antes, durante y después de la adición de ATP. En este ejemplo las células se incubaron con el indicador fluorescente Fluo4-AM. Nótese que la señal en el núcleo es siempre mayor que en el citoplasma.

estimado que el contenido de lípidos en núcleos hepáticos alcanza un 3% del peso total del organelo (proteínas 75% y ADN 22%) y se localizan preferentemente en la EN. Inicialmente los lípidos en el núcleo se consideraron como un mero componente estructural, pero este concepto ha cambiado en los últimos años (8). El metabolismo de lípidos en el núcleo se acepta como un mecanismo autónomo, por ejemplo, se ha determinado la producción de ceramida a partir de esfingomielina por medio de la actividad de la esfingomielinasa nuclear. La ceramida se ha postulado como un segundo mensajero activador de la variante molecular δ de la proteína cinasa C (PKC δ) en varios sistemas celulares (9). Además, se ha reportado la presencia de la fosfatidil inositol fosfato cinasa (PIP₂), que sintetiza al fosfatidil inositol 4,5 bisfosfato, el cual es el precursor del inositol 1,4,5-trisfosfato (IP₃). También se tienen datos que indican que la síntesis y procesamiento de ARN y ADN está fuertemente influenciado por lípidos nucleares, ya que la interacción lípido-ARN protege al ácido nucleico de la acción de enzimas degradativas (8).

De manera interesante se han descrito en la matriz nuclear la presencia de fosfolípidos endonucleares, que es el término utilizado para diferenciar estos lípidos de los que se localizan en la EN. Sin embargo, sus componentes y cantidad no han sido establecidos, aunque se supone que la fosfatidil colina es el fosfolípido predominante. Además de los fosfolípidos comunes, en este material lipídico endonuclear se encuentran niveles altos de ácido fosfatídico y de diacilglicerol (DAG) (8).

La presencia de algunos de estos lípidos en el núcleo se ha asociado a sistemas de señalización especializada. Por ejemplo, los fosfoinositoles constituyen hasta el 10 % de los

lípidos nucleares, y se les ha localizado tanto en la membrana nuclear como en dominios intranucleares ("speckles" y gránulos intercromáticos). En ambas estructuras se ha demostrado la presencia de PIP₂, DAG e IP₃ (8).

SEÑALIZACIÓN NUCLEAR

Se ha descrito ampliamente que al unirse los mensajeros a sus receptores localizados en la membrana plasmática, se desencadenan cascadas de señalización por la activación de cinasas de proteínas, fosfatasa y moléculas adaptadoras. Estos eventos de señalización afectan el metabolismo intermediario y eventualmente pueden influir en el encendido o apagado de genes (10). Gran cantidad de evidencias indican que en el núcleo también existe una transducción de señales con características similares a las descritas en la membrana plasmática y el citoplasma (5, 6, 8, 10, 11).

Recientemente se demostró en las membranas nucleares y en el retículo nucleoplásmico la presencia de receptores acoplados a proteínas G (GPCR) para diferentes ligandos como acetilcolina, angiotensina, prostaglandina, endotelina, ácido lisofosfatídico (LPA), hormona paratiroidea y glutamato, entre otros. La localización de estos receptores se determinó a través de técnicas inmunohistoquímicas utilizando microscopía confocal y electrónica, así como por ensayos de radioligandos en núcleos aislados. La funcionalidad de estos receptores se ha comprobado midiendo la activación de proteínas cinasas activadas por mitógenos, y por la producción de IP₃ y DAG. Los receptores nucleares pueden ser activados por ligandos que se derivan de las propias membranas, como el LPA y las prostaglandinas, así como por ligandos no lipogénicos. Éstos últimos pueden ser generados en el interior celular como parte del

metabolismo o pueden ser factores intracelulares, que serían captados desde el espacio extracelular por endocitosis. Se especula que la activación de receptores de membrana plasmática están involucrados en respuestas a corto plazo, mientras que los receptores nucleares serían responsables de respuestas a largo plazo (12).

También en el núcleo se ha documentado la presencia de enzimas efectoras como fosfolipasa C, A₂ y D, proteínas cinasas A y C, adenilato ciclasa, ATPasas e intercambiadores iónicos. De esta manera, la activación de receptores nucleares potencialmente puede modular cascadas de señalización que pudieran culminar con la movilización de Ca²⁺ nuclear, la fosforilación de elementos estructurales y enzimas reguladoras, así como el ensamblaje de complejos macromoleculares (5, 6, 12). La función de estos complejos está asociada con el control de la transcripción del ADN, la maduración del ARN y la regulación de las diferentes fases del ciclo celular (7).

CASCADA NUCLEAR DE FOSFOINOSITIDOS-Ca²⁺

En la membrana plasmática la activación de GPCR y algunos miembros de la familia de receptores de cinasas de tirosina, provocan que la PLC se active. Esta enzima es clave en la formación de segundos mensajeros ya que cataliza la liberación de DAG e IP₃ a partir de la hidrólisis de PIP₂. Ambos mensajeros activan a proteínas específicas, el DAG estimula a la proteína cinasa C (PKC) y proteína cinasa D (PKD), mientras que, el IP₃ se une a su receptor (IP₃R). La función del IP₃ es la movilización de Ca²⁺ de pozas intracelulares, principalmente el RE (10).

De manera sorprendente, en el núcleo también se ha descrito un sistema de señalización similar al reportado para la membrana plasmática y el

citoplasma. En el núcleo se han encontrado casi todas las proteínas y enzimas involucradas en cascadas de señalización que involucran fosfoinosítidos, GPCR, PLC y el IP_3R (12). Existen evidencias de la presencia en el núcleo de la ATPasa de Ca^{2+} sensible a tapsigargina (SERCA) y del receptor a rianodina (RyR) que comúnmente son ubicados en el RE, que ponen de manifiesto la coexistencia de una maquinaria biológica con la capacidad de movilizar Ca^{2+} en las membranas nucleares. Se ha reportado la presencia de estos elementos de la dinámica del Ca^{2+} en núcleos de ovocitos de *Xenopus*, en células HeLa, hígado, mioblastos, miocitos y en células de la capa granulosa del ovario. Sin embargo surge la pregunta: ¿Cuál es la función de la movilización de Ca^{2+} en el núcleo? Actualmente se sabe que el Ca^{2+} nuclear interviene en diferentes procesos como la apoptosis, la expresión de genes, organización de la cromatina, la translocación de proteínas, el ensamble de la EN, el transporte de moléculas, la regulación del ciclo celular y la fosforilación de proteínas (3, 5, 7).

HOMEOSTASIS DE Ca^{2+} NUCLEAR

Los gradientes de Ca^{2+} en los diferentes compartimentos celulares han sido descritos por varios investigadores. Como es bien sabido, el Ca^{2+} en el citoplasma está finamente regulado por una diversidad de canales iónicos y ATPasas que mantienen la concentración de este catión en niveles submicromolares bajos (10). Con anterioridad, ya se había descrito que organelos como el RE, la mitocondria y aun el aparato de Golgi, participan en la dinámica del Ca^{2+} . Sin embargo, hasta fechas recientes se ha incluido al núcleo en la lista de organelos movilizados de Ca^{2+} (3, 5, 6, 11, 15).

El núcleo contiene dos compartimentos de Ca^{2+} , la envoltura nuclear y

retículo nucleoplásmico. La concentración de Ca^{2+} en la envoltura nuclear, que es una continuación del RE, oscila en el rango micromolar, equivalente a lo reportado para el RE. En contraste, en el retículo nucleoplásmico la concentración de Ca^{2+} fluctúa en el rango nanomolar similar a la concentración reportada para el citoplasma. Dada la cercanía de ambos compartimentos, la envoltura nuclear puede liberar Ca^{2+} directamente al retículo nucleoplásmico a través de los IP_3R y de RyR y de esta manera alterar su concentración en regiones específicas dentro del núcleo. Este aumento en la concentración de Ca^{2+} nuclear puede amplificarse de manera importante, gracias a la existencia del retículo nucleoplásmico (6, 11). Adicionalmente la presencia de la ATPasa de Ca^{2+} sensible a tapsigargina puede bombear el Ca^{2+} de regreso a la envoltura nuclear (16).

Sin embargo, la permeabilidad de la envoltura nuclear al Ca^{2+} citosólico es controversial, se ha propuesto que el Ca^{2+} ingresa de manera pasiva al interior nuclear a través del poro nuclear. Otros autores sugieren que la envoltura nuclear es una barrera física para el paso de este ión, adicionalmente se ha propuesto el Ca^{2+} nuclear y citoplásmico se regulan de forma independiente. También se ha propuesto que el incremento en la concentración de Ca^{2+} citoplásmico y nuclear pueden tener diferentes efectos en la actividad nuclear (6, 11).

El Ca^{2+} nuclear regula funciones celulares específicas, como la translocación de proteínas cinasas y la expresión de ciertos genes. Por ejemplo, en miocitos cardíacos se demostró que los IP_3R localizados en la envoltura nuclear son activados por la estimulación del receptor a endotelina-1. Al ser estimulados, los IP_3R liberan Ca^{2+} en la vecindad del canal, y activan a la proteína calmodulina cinasa II (CamKII), la

cual fosforila a una proteína que desacetila histonas tipo II (HDAC5). Esta fosforilación provoca la salida del núcleo al citosol de HDAC5, y en consecuencia se activa la transcripción de MEF2 ("myocyte enhancer factor two"), desencadenándose de esta manera la expresión de los elementos involucrados en la hipertrofia cardíaca (13).

DETERMINACIONES DE Ca^{2+} NUCLEAR

Muchos de los estudios para determinar el aumento de la concentración de Ca^{2+} intracelular han sido realizados gracias a uso de indicadores fluorescentes. Estos colorantes fluorescentes (Fura-2, Indo-1, Fluo-4, Quin-1) han permitido estudiar por espectrofluorimetría la movilización de Ca^{2+} en tiempo real y con gran detalle. Aunado a la generación de nuevos indicadores de Ca^{2+} de baja afinidad, ha sido posible extender el estudio de las oscilaciones espaciales y temporales de Ca^{2+} a diversos organelos, entre ellos el núcleo. Entre los indicadores más utilizados para medir Ca^{2+} en el núcleo destacan el Oregon Green, el Fluo-3 AM, el Fluo-4AM, el Mag-Fura-2, el Mag-fura Red, el Fluo-5N y el Rhod-5N. Además, se han generado otros indicadores de Ca^{2+} fluorescentes con características novedosas, algunos se encuentran acoplados a dextrán, como el Fura-2 dextrán, el Calcium Green dextrán y el Fluo-4 dextrán. Estos fluoróforos penetran al núcleo a través del poro nuclear y se acumulan en el nucleoplasma, por su gran peso molecular (>10 kDa). Sin embargo, se han observado cambios en las propiedades de algunos de estos indicadores. Con respecto a la generación de indicadores de Ca^{2+} proteicos, se han producido moléculas específicas biolumiscentes para determinados organelos, pero son sensibles a pH. No obstante, el estudio de la dinámica de Ca^{2+} en el núcleo

requiere de una alta resolución espacial. A pesar de las adversidades, en estas condiciones se ha estudiado la movilización de Ca^{2+} nuclear en respuesta a IP_3 , tapsigargina, ADP-ribosa cíclico (cADPR) y el nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP), los dos últimos activadores del RyR (14, 15).

CONCLUSIÓN

Los avances experimentales de los últimos años, han cambiado la visión inicial que se tenía del núcleo celular.

De su papel único como depositario del material genético, actualmente el núcleo se considera un organelo dinámico que presenta: 1) Características estructurales y funcionales distintivas, 2) Compartimentos intranucleares y estructuras subnucleares bien definidas, 3) Capacidad para efectuar señalización en sus membranas, y 4) Autonomía en el manejo de entrada y salida de Ca^{2+} .

El núcleo ha sido y seguirá siendo el centro de interés de muchos grupos científicos del orbe. Sin lugar a duda,

el estudio de la fisiología nuclear será un eslabón importante en la biología del siglo XXI que ayudará a comprender el procesamiento del material genético en todas sus dimensiones, la comunicación que se establece entre el núcleo y los demás organelos y la influencia de los procesos nucleares en varias patologías.

Agradecimientos. Escrito apoyado con los donativos PAPPIT para MDM y CS. PFAMU para VMT.

REFERENCIAS

- Lamond AI, Sleeman JE (2003) Nuclear substructure and dynamics. *Curr Biol*. 13:R825-8.
- D'Angelo MA, Hetzer MW (2006) The role of the nuclear envelope in cellular organization. *Cell Mol Life Sci*. 63:316-32.
- Peters R (2007) Single-molecule fluorescence analysis of cellular nanomachinery components. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*. 36:371-94.
- Lamond AI, Spector DL (2003) Nuclear speckles: a model for nuclear organelles. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 8:605-12.
- Echevarría W, Leite FM, Guerra MT, Zipfel WR, Nathanson MH (2003) Regulation of calcium signals in the nucleus by a nucleoplasmic reticulum. *Nature Cell Biology* 5:440-446.
- Alonso MT, Villalobos C, Chamero P, Alvarez J, Garcia-Sancho J (2006). Calcium microdomains in mitochondria and nucleus. *Cell Calcium*. 40:513-25.
- Fricker M, Hollinshead M, White N, Vaux D (1997) Interphase Nuclei of Many Mammalian Cell Types Contain Deep, Dynamic, Tubular Membrane-bound Invaginations of the Nuclear Envelope. *J Cell Biol*. 136: 531-544.
- Ledeer RW, Wu G (2004) Nuclear lipids: key signaling effectors in the nervous system and other tissues. *J Lipid Res*. 45:1-8.
- Albi E, Cataldi S, Bartocchini E, Magni MV, Marini F, Mazzoni F, Rainaldi G, Evangelista M, Garcia-Gil M (2006) Nuclear sphingomyelin pathway in serum deprivation-induced apoptosis of embryonic hippocampal cells. *J Cell Physiol*. 206:189-95.
- Berridge M J, Lipp P y Bootman M. D. (2000) The versatility and universality of calcium signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 1:11-21.
- Gomes DA, Leite M F, Bennett A M y Nathanson A M (2006) Calcium signaling in the nucleus. *Can J Physiol Pharmacol*. 84:325-32.
- Gobeil F, Fortier A, Zhu T, Bossolasco M, Leduc M., Grandbois M, Heveker N, Bkaily G, Chemtob S y Barbaz D. (2006) G-protein-coupled receptors signalling at the cell nucleus: an emerging paradigm. *Can J Physiol Pharmacol*. 84:287-97.
- Wu X, Zhang T, Bossuyt J, Li X, McKinsey TA, Dedman J R, Olson E N, Chen J, Brown J H y Bers D M (2006) Local IP_3 -dependent perinuclear Ca^{2+} signaling in cardiac myocyte excitation-transcription coupling. *J Clin Invest*. 116:675-82.
- Perez-Terzic C, Stehno-Bittel L, y Clapham D E (1997) Nucleoplasmic and cytoplasmic differences in the fluorescence properties of the calcium indicator Fluo-3. *Cell Calcium*. 21:275-82.
- Gerasimenko O y Tepikin A (2005) How to measure Ca^{2+} in cellular organelles? *Cell Calcium*. 38:201-11.
- Gerasimenko J V, Maruyama Y, Yano K, Dolman NJ, Tepikin A V, Petersen O H, Gerasimenko O V (2003) NAADP mobilizes Ca^{2+} from a thapsigargin-sensitive store in the nuclear envelope by activating ryanodine receptors. *J Cell Biol*. 163:271-82.

"¡SILENCIO MENSAJEROS! QUÉ SON Y CÓMO ACTÚAN LOS MICRORNAs"*

Fabián Flores¹, Miguel Ángel Martínez², Catalina Arenas^{2,3}, Alejandra Covarrubias³ y José Luis Reyes³

RESUMEN

Los microRNAs son moléculas pequeñas de RNA con la capacidad de reconocer, por complementariedad de bases, ciertas regiones de un RNA mensajero blanco. Esta unión resulta en la inhibición de la expresión de dicho mensajero, es decir, su silenciamiento. En esta revisión se describirán los avances recientes en la identificación, biogénesis, distribución genómica así como los mecanismos de acción de los microRNAs en plantas y animales. Al mismo tiempo se mencionarán aquellos otros RNAs pequeños que existen tanto en plantas como en animales y a los cuales también se les ha propuesto una porción regulatoria. Finalmente, se resaltarán algunas de las preguntas aun no contestadas sobre los microRNAs, las cuales constituyen retos importantes para las siguientes generaciones de investigadores.

PALABRAS CLAVE: microRNAs, siRNAs, RISC, Dicer, Argonauta

INTRODUCCIÓN

En el año 1993, un grupo de investigadores de la Universidad de Harvard se encontraba estudiando la regulación del desarrollo larvario en el nemátodo *Caenorhabditis elegans*. El gen en el que centraban su atención era *lin-4*, el cual es esencial para el desarrollo post-embriónico del nemátodo. Lo único que sabían en ese tiempo era que en la etapa larvaria 1, *lin-4* regula negativamente los niveles de una proteína llamada LIN-14. Mostrando una gran pericia y perseverancia, el grupo dirigido por Victor Ambros encontró

que *lin-4* no es un gen que codifica para una proteína, sino que da origen a dos RNAs: uno de 22 nucleótidos (nt) y otro de aproximadamente 60 nucleótidos el que potencialmente podría formar una estructura de tallo-asa y ser el precursor del RNA más corto (1). Tiempo después, se descubrió que la manera en la que el RNA *lin-4* de 22 nt regula la producción de la proteína LIN-14 es uniéndose al RNA mensajero de *lin-14* por complementariedad de bases, evitando así su traducción. Estas fueron las primeras observaciones descritas en

las que un RNA pequeño se unía directamente a un RNA mensajero (mRNA) para inhibir su expresión. Sin embargo, la importancia de estos descubrimientos se mantuvo latente hasta el año 2001, cuando se encontraron decenas de RNAs de tamaños cercanos a 21 nt en el mismo nemátodo (*C. elegans*), en plantas (*A. thaliana*) en moscas (*D. melanogaster*) y en vertebrados (*Homo sapiens*). A estos RNAs recién descubiertos se les bautizó como microRNAs (miRNAs) (2-4).

Actualmente se sabe que los miRNAs participan en un sinnúmero

ABSTRACT

MicroRNAs are short RNA molecules that base-pair to complementary regions in target messenger RNAs. Binding of microRNAs results in the inhibition of target mRNA expression, termed RNA silencing. Here, we will review recent progress in the identification, biogenesis genomic arrangement and mechanisms of action of plant and animal microRNAs. In addition, we will present other small RNAs found in both plants and animals that have also been proposed as regulators of gene expression as well. Finally, we highlight what we consider to be current questions in the field, as important challenges for future researchers.

KEY WORDS: microRNAs, siRNAs, RISC, Dicer, Argonauta

*Recibido: 4 de octubre de 2007 Aceptado: 13 de noviembre de 2007

¹ Posgrado en Ciencias Biomédicas, Instituto de Fisiología Celular, UNAM Ciudad Universitaria, México, DF; ² Posgrado en Ciencias Bioquímicas, y ³ Departamento de Biología Molecular de Plantas, Instituto de Biotecnología, UNAM, Cuernavaca, Mor. México. Correspondencia: Dr. José Luis Reyes, Departamento de Biología Molecular de Plantas, Instituto de Biotecnología, UNAM. Av. Universidad 2001, Col. Chamilpa. Cuernavaca, Mor. C. P. 62210. Teléfono: (777) 329-1668 Fax: (777) 313-6600 Correo E: jlreyes@ibt.unam.mx

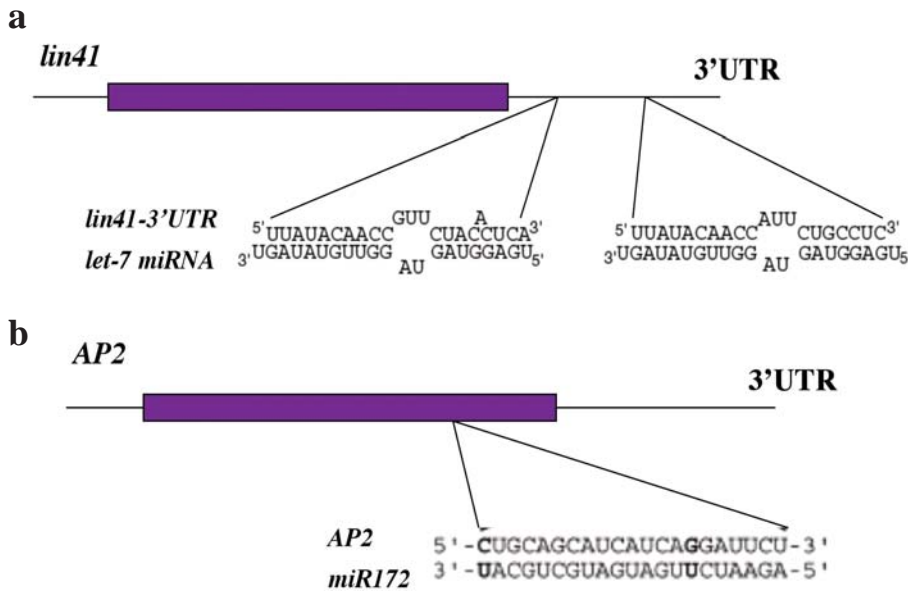


Figura 1. Interacción de microRNAs con sus mensajeros blanco.
 a) Apareamiento de *let-7* con el mensajero de *lin41*. El apareamiento imperfecto ocurre en la región 3' no traducida (3'UTR), en dos sitios diferentes.
 b) Apareamiento de *miR172* con el RNAm de *APETALA2* (*AP2*). El apareamiento casi perfecto ocurre en la región codificante de *AP2*.
 En ambos casos se muestran los mensajeros con una caja morada para indicar la región codificante del RNAm.

de procesos, regulando la expresión de una gran cantidad de RNA mensajeros involucrados en diferentes procesos tales como la diferenciación, la proliferación y la muerte celular, entre otras. A la fecha se han encontrado numerosos miRNAs, de los cuales varios se encuentran conservados en muy diversas especies, lo que sugiere que la regulación por miRNAs es un mecanismo que adoptaron los organismos multicelulares tempranamente en su evolución. El enorme número de miRNAs que se han descubierto fue motivo para que la comunidad que los estudia, desarrollara una base de datos especializada en la que se anotan y organizan, y en algunos casos se incluye información sobre los posibles mRNA que estos regulan (5). A pesar de que la lista de miRNAs encontrados experimentalmente sigue creciendo, aún no se han identificado todos: en humanos se calcula que aproximadamente el 1% de los genes corresponden a miRNAs y éstos a su vez

podrían regular hasta un 30% de los genes (5). De estos y otro tipo de estudios se sabe que en animales, los miRNAs se unen por complementariedad imperfecta a las regiones no traducibles del extremo 3' del mensajero y que inhiben su traducción por un mecanismo poco definido. Por el contrario, en plantas los miRNAs se unen de manera perfecta o casi perfecta a las regiones codificantes de los mRNA, y es esta complementariedad la que dispara la degradación del mRNA (Fig. 1) (6).

¿Qué es un microRNA?

Al igual que el miembro fundador *lin-4*, los miRNAs son RNAs de cadena sencilla que varían en tamaño desde 17 hasta 25 nt, teniendo como tamaño más común 21 nt. Una particularidad importante de los miRNAs es que todos sus precursores forman estructuras tipo tallo y asa, lo que se ha convertido en una propiedad esencial para los grupos que están interesados en su identificación. En general, los

microRNAs se transcriben de regiones intergénicas, ya sea de manera individual o en grupos de varios microRNA contenidos en un sólo transcrito, aunque también se ha visto que hay muchas regiones intrónicas que los contienen individualmente o en grupos (6). Algunos microRNAs se expresan de manera ubícua, mientras muchos otros lo hacen de forma tejido-específica, o incluso temporal, dependiendo de la etapa de desarrollo en la que se encuentre la célula o tejido, como es el caso de *lin-4*. Algo importante de resaltar es que no se ha caracterizado las secuencias promotoras encargadas de su transcripción, aunque si se sabe que pueden ser transcritos por la RNA polimerasa II que normalmente se encarga de transcribir los genes que codifican proteínas, o por la RNA polimerasa III cuyos productos son constitutivos.

Biogénesis de los microRNAs

Casi paralelamente al descubrimiento de los miRNAs, se describió una nueva y efectiva forma de inhibir la traducción de los RNAs mensajeros a placer del experimentador. Esta técnica consiste en generar un RNA de doble hebra (dsRNA, del inglés "double-stranded RNA") correspondiente a un fragmento del mRNA que se desea interferir. Al introducir el dsRNA en las células, se dispara la degradación del mRNA endógeno que comparte las secuencias presentes en el dsRNA. A este fenómeno se le llamó interferencia por RNA o en corto *RNAi* (del inglés "RNA interference"), el cual ha impactado en gran medida la investigación básica en el área biológica por constituir una herramienta que por su versatilidad ha resultado de gran utilidad. Gracias al descubrimiento del *RNAi* y a la gran curiosidad que despertó su mecanismo de acción, se empezó a identificar los factores involucrados, ayudando a delinear un modelo muy detallado de

cómo éste se lleva a cabo: el dsRNA es procesado para generar moléculas pequeñas de aproximadamente 21 a 22 nucleótidos llamados *siRNAs* (por "small interfering RNAs"), con las mismas características bioquímicas de los miRNAs que les permiten utilizar la maquinaria celular para silenciar RNAs endógenos. Lo más interesante es que al estudiar el fenómeno de RNAi se ha descubierto que muchas de las proteínas involucradas en esta vía también participan en el procesamiento y actividad de los miRNAs (6).

En consecuencia, se ha podido definir también el panorama general de la biogénesis de los miRNAs en animales (Fig. 2), los genes de miRNAs se transcriben por las RNA polimerasas II o III y el transcrito primario es llamado *pri-miRNA*. En general, se piensa que los *pri-miRNAs* son transcritos de varios cientos de nucleótidos, aunque en realidad no se ha hecho un análisis exhaustivo de las secuencias que los delimitan, ya sea en plantas o animales. Dentro del *pri-miRNA* se encuentra una estructura de tallo-asa de entre 60-70 nt conocida como el *pre-miRNA*, la cual resulta de su procesamiento en el núcleo de las células animales por un complejo proteínico llamado microprocesador, el cual está formado por Drosha (una RNasa tipo III) y una proteína con dominios de unión a RNA de doble hebra llamada Pasha (7). El *pre-miRNA* es trasladado al citoplasma mediante la exportina 5 en un proceso dependiente de GTP. Una vez en el citoplasma, sufre otro procesamiento en el que se remueve el asa terminal y se reduce a una cadena doble de ~21 pares de bases (pb). La remoción del asa es llevada a cabo por otra RNasa del tipo III llamada Dicer. Es entonces cuando el RNA pequeño de doble cadena es reclutado al complejo conocido como RISC (del inglés "RNA Induced Silencing Complex") que es el efector del silenciamiento de los RNAs. En este

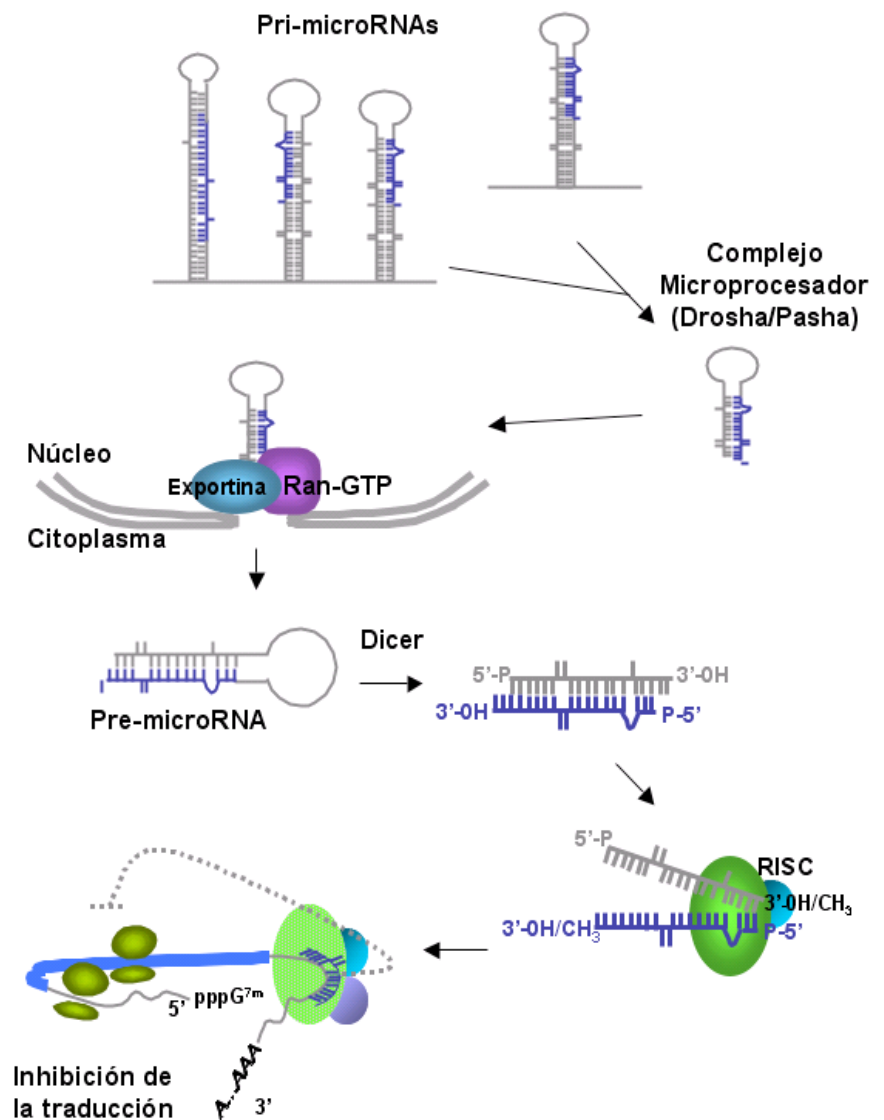


Figura 2. Biogénesis y mecanismo de acción más frecuente en animales.

Dos distintos transcritos primarios que pueden ser precursores, ya sea conteniendo uno o varios miRNAs, son primeramente convertidos por el microprocesador en *pre-miRNAs* que son llevados al citoplasma por exportina 5. El mensajero blanco se muestra unido a ribosomas y a RISC, con el miRNA dirigiendo la inhibición de su traducción. El miRNA se muestra como una cadena en azul a lo largo de su maduración.

complejo se encuentra una proteína llamada Argonata (Ago) cuyas funciones son: 1) degradar una de las dos hebras del RNA pequeño, producto de Dicer, para dar como resultado final al miRNA funcional y 2) posteriormente detener la traducción cuando la homología y por lo tanto su hibridación es parcial; o por el contrario para degradar al RNAm blanco cuando su hibridación con el miRNA es total. En animales, la secuencia o secuencias

blanco reconocidas por los miRNAs se localizan generalmente en las regiones 3' no traducida de los RNA mensajeros (Fig. 1a).

Las plantas no poseen un complejo microprocesador como en el caso de animales, sino que en su lugar la proteína *DCL1* (**DICER-LIKE 1**, un homólogo de Dicer) se encarga de procesar los *pri-microRNAs* a *pre-microRNAs* y después éstos a RNAs pequeños de doble cadena (Fig. 3).

Como particularidad, y a diferencia de lo que ocurre en animales, en plantas existe una modificación química por la cual el extremo 3' del miRNA maduro es metilado por la proteína *HEN1*. Una vez procesados, los RNAs dúplex de aproximadamente 21 pb son transportados al citoplasma por *HASTY* (un homólogo de exportina 5) por un mecanismo dependiente de Ran-GTP y ya en el citoplasma, son reclutados por el complejo RISC, en donde una de las dos hebras del RNA es degradada para dar lugar al miRNA maduro. El complejo RISC que contiene a *AGO1* y un miRNA puede entonces encontrar un mensajero blan-

co (8). Contrario a lo que ocurre en animales en las plantas la hibridación microRNA/mRNA es total y se lleva a cabo generalmente en la región codificante del mRNA, lo cual dispara la degradación del mensajero reconocido (Fig. 1B y Fig. 3).

Además de estas diferencias en la biogénesis, en plantas se ha encontrado una gran diversidad de RNAs pequeños distintos a los miRNAs. Por ejemplo, el mRNA no-codificante de los genes *TAS* de *Arabidopsis* es utilizado como templado para la generación de *ta-siRNAs* (del inglés "trans-acting siRNAs"), otro tipo de RNAs reguladores pequeños. El transcrito de

TAS es inicialmente reconocido y cortado por un miRNA para poder ser convertido después a dsRNA por las proteínas RDR6 y SGS. El RNA de doble hebra es procesado posteriormente por otra proteína tipo Dicer, *DCL4* a *ta-siRNAs* de ~21 nt. De esta manera los *ta-siRNAs* pueden ser finalmente incorporados en RISC y dirigir el silenciamiento de otros transcritos (8). Otro tipo de RNAs pequeños reguladores descubiertos en plantas son los *nat-siRNAs* ("natural antisense transcript siRNAs"). Estos se originan cuando dos transcritos independientes provenientes de cadenas opuestas de una misma región

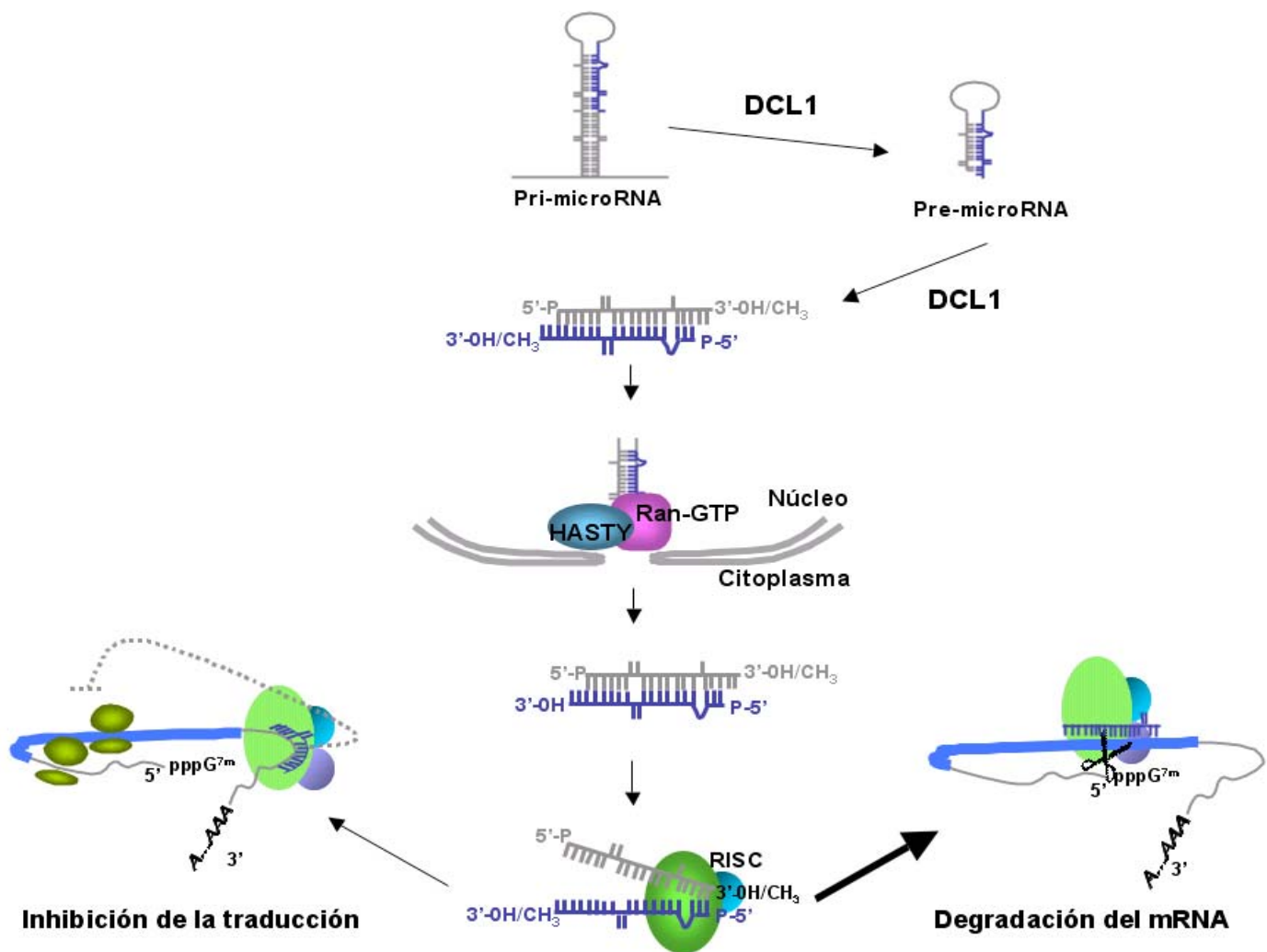


Figura 3. Biogénesis y mecanismo de acción más común en plantas.

En plantas, generalmente el transcrito primario contiene un solo miRNA. DCL1 se encarga de los primeros pasos de maduración para que HASTY exporte el miRNA al citoplasma. Una de las dos cadenas es seleccionada e incorporada en RISC para dirigir la degradación el mensajero blanco. En pocos casos también se ha observado la inhibición de su traducción. El miRNA se muestra en color azul.

genómica son producidos, lo cual ocurre de forma natural en ciertos genes. Las regiones comunes de estos mensajeros pueden entonces aparearse, dando lugar a RNAs de doble hebra. Los dsRNAs resultantes son procesados por *DCL2* generando nat-siRNAs de ~24 nt que pueden entonces ser reclutados a RISC y ser capaces de silenciar transcritos específicos. Al igual que para los miRNAs o los ta-siRNAs, un grupo de proteínas específicas son necesarias para la biogénesis de los nat-siRNAs, muchas de las cuales se comparten en las diferentes vías de biogénesis (8). Con esta gran variedad de RNAs pequeños presente en las plantas, surge la pregunta si algo similar ocurre en animales. Sólo recientemente se ha descubierto otro tipo de RNAs pequeños en células animales que se encuentran asociados a una proteína de la familia de Argonauta, llamada Piwi. Los "piwi-interacting" RNAs (piRNAs) son de un tamaño cercano a 30 nt y su función no ha sido claramente definida, aparte de encontrarse relacionados con el silenciamiento de genes a nivel transcripcional en células germinales (9).

¿Cómo se identifica a un microRNA?

La identificación de miRNAs es una tarea muy laboriosa y compleja. La razón de ello es sencilla, no todos los RNAs de 21 nucleótidos son miRNAs. Cuando alguien se da a la tarea de identificar miRNAs por técnicas de clonación, la degradación de RNA es algo inherente al método que se escoge, sea cual sea la técnica. Así que, entre los cientos y en algunos casos miles, de secuencias de posibles miRNAs es necesario descartar todas aquellas de las cuales se sospeche sean un producto de degradación de un RNA de mayor tamaño. Desafortunadamente, la única forma de descartarlas es identificándolas una por una y ésto sólo ocurre después de haberlas clonado y secuenciado. En general, los

miRNAs sólo corresponden a un pequeño porcentaje del total de las secuencias obtenidas, ya que en su mayoría se aíslan fragmentos de RNAs ribosomales, fragmentos de RNAs mensajeros abundantes, de tRNAs, etc., en pocas palabras, es posible clonar cualquier RNA que se degrade.

Entonces, ¿cómo se identifica a un microRNA? Una de las estrategias más utilizadas consiste en realizar un análisis bioinformático a partir de los cientos de secuencias de RNAs pequeños obtenidas, comparándolas con diferentes bases de datos. Todo ello con la finalidad primaria de identificar a qué corresponde cada una de las secuencias aisladas. De esta manera se eliminan los fragmentos que corresponden a RNAs previamente conocidos. Sin embargo, no todos los RNAs depurados corresponden a miRNAs; todavía podrían existir muchas secuencias que no hayan sido identificadas que podrían ser confundidas con miRNAs. Por lo tanto, el siguiente paso es ubicar el o los posibles *loci* en el genoma, y explorar si los posibles transcritos de estas secuencias en él, pueden formar una estructura de tipo tallo y asa. La formación del tallo y asa en la secuencia del *locus* correspondiente es un requerimiento esencial para considerar a un miRNA como verdadero, aunque no necesariamente todos los tallos y asas son premiRNAs. Por esta última razón se hace obligatorio un análisis bioinformático adicional dirigido a identificar secuencias homólogas conservadas en otras especies. Por ejemplo, el miRNA let-7 es exactamente igual entre *C. elegans*, *D. melanogaster* y *H. sapiens* (5). Por último y como confirmación, generalmente se hacen experimentos tipo Northern blot con la finalidad de comprobar la expresión individual de las secuencias candidato. De esta manera es como se ha registrado una gran cantidad de miRNAs en la base de datos MirBase

(<http://microrna.sanger.ac.uk>), los cuales son el resultado de largas horas de depuración bioinformática (5).

Muchos microRNAs... ¿muchos blancos?

La identificación masiva de miRNAs ha promovido la generación de algoritmos computacionales para poder predecir los posibles mensajeros regulados por cada miRNA. Basados en los resultados obtenidos de los experimentos bioquímicos del mecanismo de acción de miRNAs y siRNAs y usando como RNAs blanco genes reporteros, se tiene una idea de cuáles son los requerimientos de estabilidad miRNA/RNAM, lo cual permite que se puedan predecir dichos pares. Para el caso de plantas, se han hecho numerosos avances en la identificación de los mRNA regulados por miRNAs, ya que, generalmente, en estos organismos existen RNAs blanco que presentan un alto grado de complementariedad con el miRNA, lo cual facilita su identificación. Sin embargo, en animales, la historia no es así de sencilla; como se mencionó arriba, los miRNAs en animales se unen a su RNAm blanco de manera parcial, ésto es, algunas posiciones no están apareadas, como es el caso de let-7 (Fig. 1a). Por lo tanto, mientras menos nucleótidos sean necesarios, para el apareamiento, mayor será el número de posibles secuencias que podrían hibridar. Este hecho constituye un paradigma en el estudio de los miRNAs en animales, ya que se ha estimado que para cada miRNA, podría existir cerca de 200 blancos posibles y para cada blanco hasta 20 diferentes miRNAs que lo reconocen. Como podrá imaginarse el lector, estas interacciones pueden dar lugar a redes de regulación miRNAs/RNAs muy complejas y representan un gran reto para la dilucidación de los diferentes mecanismos de control de genes particulares y de grupos génicos implicados en procesos particulares.

microRNAs y control celular

Además de los procesos celulares antes mencionados en los que se ha visto la participación de los miRNAs, se han encontrado algunas condiciones patológicas relacionadas con la sobreacumulación o la ausencia de los mismos ya que, recientemente, se han descubierto algunos miRNAs que actúan como supresores tumorales u oncogenes al regular blancos involucrados en el ciclo celular. Por ejemplo, los miRNAs miR-15a y miR-16-1 regulan negativamente *BCL2*, un gen antiapoptótico cuyo producto frecuentemente se encuentra aumentado en leucemias y linfomas (10). En tumores colo-rectales, se ha reportado que los niveles de expresión de los miRNAs miR-143 y miR-145 están significativamente reducidos (11). Los niveles de miR-1 están elevados en pacientes con afección de la arteria coronaria; mientras que los niveles de miR-133 están reducidos en pacientes con hipertrofia cardíaca (12, 13).

Por otro lado, en *A. thaliana*, además de la participación en el control del desarrollo, se ha encontrado miRNAs involucrados en la regulación de la percepción de nutrientes. El miRNA miR-395 se expresa en deficiencia de sulfato afectando la expresión de enzimas involucradas en la asimilación del mismo (14) y el miRNA miR-399 se expresa en respuesta a la deficiencia de fosfato, teniendo como blanco al transcrito del gen *UBC24* que codifica para una enzima involucrada en la degradación de pro-

teínas (14). Finalmente, incluso se ha identificado a un nat-siRNA como importante en la respuesta a estrés salino en *A. thaliana* (8).

Así, los microRNAs no solamente son importantes como reguladores del desarrollo celular o reguladores que previenen o promueven ciertas enfermedades, sino como moléculas que mantienen el equilibrio metabólico general.

Retos a futuro

Evidentemente, para los investigadores interesados en los mecanismos básicos de los miRNAs, el reto más importante a largo plazo es identificar el número real de miRNAs en las diferentes especies, así como encontrar los RNAs que son regulados por éstos, todo ello con el fin de integrar las diferentes redes de control que pudieran existir en un organismo dado para un proceso determinado. Considerando el número creciente de miRNAs que se registran en el MirBase, ésta tarea no será nada fácil. Esto, sin tomar en cuenta el papel regulador que puedan tener los otros RNAs pequeños existentes en la célula, tales como los ta-siRNAs, nat-siRNAs, piRNAs u otros cuya existencia aún no hemos descubierto.

Una idea que ha entusiasmado tanto a investigadores como a las grandes compañías farmacéuticas es el uso del fenómeno de RNAi. A la fecha se ha intentado utilizar esta metodología utilizando RNAs pequeños de doble cadena (siRNAs) para inducir el

silenciamiento de RNAs blanco específicos por la vía de RNAi, sin embargo, este tipo de herramientas se ha visto enriquecida con la posibilidad de silenciar el transcrito que se desee, utilizando miRNAs artificiales, diseñados específicamente para el blanco deseado (15, 16). Sin embargo, ahora el reto más grande en el desarrollo de este tipo de tecnología es hacer llegar el miRNA de una forma efectiva a la célula o tejido blanco. Aún con estas limitaciones, el potencial de esta tecnología deja abierta la esperanza de poder utilizarla en el diseño de terapias para contrarrestar enfermedades que afectan al humano como el SIDA, el cáncer, las enfermedades neurodegenerativas, etc. Cabe mencionar que esta metodología se ha convertido en una herramienta poderosa que, junto con el RNAi, ha ampliado las posibilidades para el análisis de diferentes procesos biológicos en organismos diversos ya que, permite disminuir o anular (silenciar) la producción de una proteína dada, emulando la generación de mutaciones dirigidas en genes específicos. Sin duda, un conocimiento más profundo de cómo los RNAs pequeños se regulan, cómo funcionan y qué procesos celulares regulan estos, impactará no sólo al mayor y mejor entendimiento de los mismos, sino que también incrementará el potencial utilitario de esta herramienta para resolver diversos problemas que aquejan a la raza humana y al medio ambiente que la rodea.

REFERENCIAS

1. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V (1993) The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*. 75(5): 843-854.
2. Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T (2001) Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science*. 294(5543): 853-858.
3. Lee R, Ambros V (2001) An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. *Science*. 294(5543): 862-864.
4. Lau NC, Lim LP, Weinstein EG, Bartel DP (2001) An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. *Science*. 294(5543): 858-862.

5. Griffiths-Jones S (2006) miRBase: the microRNA sequence database. *Methods Mol Biol.* 342: 129-138.
6. Bartel DP (2004) MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell.* 116(2): 281-297.
7. Kim VN (2005) MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 6(5): 376-385.
8. Vaucheret H (2006) Post-transcriptional small RNA pathways in plants: mechanisms and regulations. *Genes Dev.* 20(7): 759-771.
9. Kim VN (2006) Small RNAs just got bigger: Piwi-interacting RNAs (piRNAs) in mammalian testes. *Genes Dev.* 20(15): 1993-1997.
10. Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, Iorio MV, Ferracin M, Shimizu M, Wojcik SE, Aqeilan RI, Zupo S, Dono M, Rassenti L, Alder H, Volinia S, Liu CG, Kipps TJ, Negrini M, Croce CM (2005) miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 102(39): 13944-13949.
11. Michael MZ, O' Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ (2003) Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Molecular Cancer Research: MCR.* 1(12): 882-891.
12. Yang B, Lin H, Xiao J, Lu Y, Luo X, Li B, Zhang Y, Xu C, Bai Y, Wang H, Chen G, Wang Z (2007) The muscle-specific microRNA miR-1 regulates cardiac arrhythmogenic potential by targeting GJA1 and KCNJ2. *Nat Med.* 13(4): 486-491.
13. Carè A, Catalucci D, Felicetti F, Bonci D, Addario A, Gallo P, Bang ML, Segnalini P, Gu Y, Dalton ND, Elia L, Latronico MV, Høydal M, Autore C, Russo MA, Dorn GW 2nd, Ellingsen O, Ruiz-Lozano P, Peterson KL, Croce CM, Peschle C, Condorelli G (2007) MicroRNA-133 controls cardiac hypertrophy. *Nat Med.* 13(5): 613-618.
14. Chiou TJ (2007) The role of microRNAs in sensing nutrient stress. *Plant Cell Environ.* 30(3): 323-332.
15. Tiscornia G, Tergaonkar V, Galimi F, Verma IM (2004) CRE recombinase-inducible RNA interference mediated by lentiviral vectors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 101(19): 7347-7351.
16. Niu QW, Lin SS, Reyes JL, Chen KC, Wu HW, Yeh SD, Chua NH (2006) Expression of artificial microRNAs in transgenic *Arabidopsis thaliana* confers virus resistance. *Nat Biotechnol.* 24(11): 1420-1428.

PROBLEMA BIOQUÍMICO

Angélica Rueda y Sánchez de la Vega
Correo E: aruedasan@prodigy.net.mx

Caracterización de los receptores cardíacos de rianodina por ensayo de unión a ligando marcado radiactivamente

Durante el proceso de excitación-contracción en el músculo cardíaco, el aumento en la concentración del calcio libre intracelular ($[Ca^{2+}]_i$) activa a la maquinaria contráctil de los cardiomiocitos. La fuente principal de calcio para la contracción se encuentra en los depósitos intracelulares, localizados en el retículo sarcoplásmico. La salida de calcio de estos depósitos se da por la vía de la activación del canal/receptor de rianodina, por un influjo de este mismo catión del medio extracelular, en el proceso conocido como liberación de calcio inducida por calcio. El receptor de rianodina recibió este nombre porque fue con la ayuda del alcaloide rianodina (que se extrae de la planta *Ryania Speciosa*) que este canal se identificó y localizó por primera vez en las cisternas terminales (regiones especializadas del retículo sarcoplásmico que están en proximidad con la membrana plasmática) del músculo esquelético (1). Sin embargo, es importante aclarar que en el corazón, el ligando natural del receptor de rianodina es el calcio.

En ciertas alteraciones cardíacas como en la taquicardia ventricular polimórfica (2) y en la insuficiencia cardíaca por diabetes (3) se han detectado cambios en el número de receptores funcionales de rianodina, o bien en la sensibilidad de éstos al calcio, y/o a algunos moduladores (ATP, Mg^{2+} , FKBP, soricina). Mientras que en otras alteraciones, como en la insuficiencia cardíaca congestiva (4) no se han detectado estos cambios que comprometen la función normal del corazón, por lo que se han buscado otras explicaciones.

Una forma sencilla para determinar la cantidad de receptores funcionales de rianodina, así como la sensibilidad de los mismos a moduladores, es por medio de ensayos de unión ("binding") a un ligando, marcado radiactivamente, en este caso la $[^3H]$ -rianodina.

PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL

Para realizar un ensayo de unión a $[^3H]$ -rianodina se utiliza la fracción microsomal (100,000 x g) del homogenado de corazón de perro. En los tubos de unión total, se agrega el medio de unión más $[^3H]$ -rianodina a las concentra-

ciones indicadas en la Tabla 1. Se inicia la interacción receptor-ligando con 50 μ g de proteína microsomal y se deja incubar por 90 min a 36 °C, para alcanzar el equilibrio. Posteriormente se filtra, se lava y se mide la cantidad de $[^3H]$ -rianodina que permaneció unida a los microsomas usando el contador de centelleo líquido.

En los tubos de unión inespecífica se agrega todo lo anterior, más ligando no marcado (10 μ M de rianodina) y se procesa de la misma forma que los tubos en donde se determinó la unión total.

La Tabla 1 muestra los datos de radioactividad (en cuentas por min, o cpm) que se obtienen tanto de los tubos de unión total como en los de unión inespecífica.

Después de un ataque cardíaco agudo (infarto) la función del corazón queda comprometida; la parte que no sufre daño debe realizar un trabajo mayor para compen-

TABLA 1

[³ H]-Rianodina (nM)	Unión Total		Promedio dpm	Unión Específica	
	cpm	cpm		dpm	pmol/mg Prot.
	Serie 1	Serie 2			
0.6	251	265			
1.25	369	423			
2.5	688	523			
5	1027	873			
10	1418	1461			
20	1974	2283			
Unión inespecífica					
0.6	63	82			
1.25	125	124			
2.5	224	212			
5	372	366			
10	827	706			
20	1459	1556			

sar la pérdida. Esto conduce a un periodo de disminución del trabajo cardíaco (insuficiencia cardíaca) y a una compensación que se refleja en un aumento de la masa muscular del corazón *a posteriori* (insuficiencia cardíaca

congestiva). Los cardiomiocitos del corazón hipertrófico sufren una remodelación estructural y aumentan de tamaño; sin embargo, paradójicamente, la función no mejora. Esto se refleja en un corazón que sigue presentando una menor contractilidad y que genera una presión sistólica disminuida, entre otras anomalías. Entre las causas que pueden explicar la disminución de la función cardíaca del corazón hipertrófico tenemos: 1) que la cantidad de receptores de rianodina esté disminuida, por lo que el proceso de excitación-contracción queda comprometido; 2) que aunque se mantenga el mismo número de receptores de rianodina, su modulación sea deficiente y 3) que la cantidad de calcio de los reservorios intracelulares sea baja e insuficiente para mantener la contracción. El primer planteamiento se puede contestar con un ensayo de unión a [³H]-rianodina. Este experimento se realiza con microsomas (100,000 x g) de corazón de perro al que previamente se le insertó un marcapasos para inducirle taquicardia y en consecuencia hipertrofia cardíaca (4) que equivale a la insuficiencia cardíaca congestiva en los humanos, con lo que se obtuvieron los datos que se presentan en la Tabla 2.

TABLA 2

[³ H]-Rianodina (nM)	Unión Total		Promedio dpm	Unión Específica	
	cpm	cpm		dpm	pmol/mg Prot.
	Serie 1	Serie 2			
0.6	205	226			
1.25	363	367			
2.5	640	548			
5	920	854			
10	1230	1167			
20	1920	1847			
Unión inespecífica					
0.6	58	66			
1.25	102	105			
2.5	165	160			
5	249	284			
10	499	547			
20	1083	1155			

PREGUNTAS

1. La [³H]-rianodina que se usó tiene una actividad específica de 56 Ci/mmol y el frasco contiene 0.1 mCi/ml. Calcule la concentración molar de la [³H]-rianodina en el frasco.
2. Haga el promedio de cada punto, tanto para la unión total como para la unión inespecífica, en ambas tablas de datos. Convierta el promedio de cpm a desintegraciones por minuto (dpm) sabiendo que se usó un contador de centelleo líquido que tiene una eficiencia del 55 % y tiene una basal de radiactividad de 20 cpm. Calcule la unión específica en dpm.
3. Con los datos anteriores, y sabiendo que 1 Ci = 2.2 x 10¹² dpm, calcule la unión específica de [³H]-rianodina en pmol/mg de proteína, para cada uno de los puntos en ambas tablas de datos.
4. Haga las gráficas de saturación (unión específica en pmol/ mg proteína vs. [[³H]-rianodina] en nM) y el ajuste correspondiente de los datos de la Tabla 1 y Tabla 2. Determine la cantidad total de receptores de rianodina funcionales y la afinidad de los mismos por su ligando.
5. Qué les sucede a los receptores de rianodina que provienen de un corazón de perro al que se le indujo una insuficiencia cardíaca?
6. ¿Este tipo de interacción es cooperativa? Si o no, y por qué.

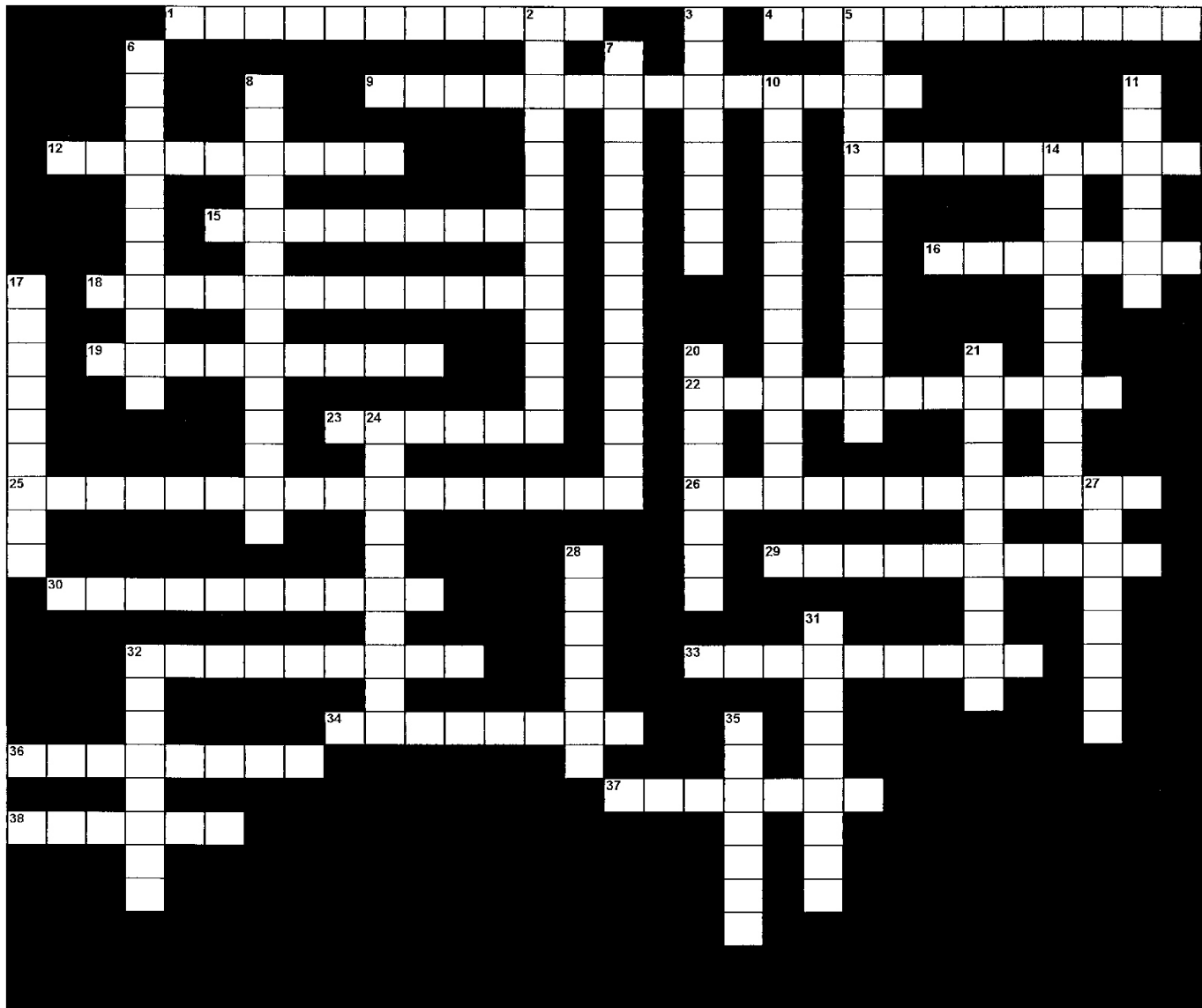
REFERENCIAS

1. Fleischer S, Ogunbunmi EM, Dixon MC, Fleer EAM (1985) Localization of Ca²⁺ release channels with ryanodine in junctional terminal cisternae of sarcoplasmic reticulum of fast skeletal muscle. PNAS 82: 7256-7259.
2. Jiang D, Wang R, Xiao B, Kong H, Hunt DJ, Choi P, Zhang L, Chen SRW (2005) Enhanced Store Overload-Induced Ca²⁺ Release and channel sensitivity to luminal Ca²⁺ Activation Are common defects of RyR2 mutations linked to ventricular tachycardia and sudden death Circ Res 97: 1173-1181.
3. Pereira L, Matthes J, Schuster I, Valdivia HH, Herzig S, Richard S, Gómez AM (2006) Mechanisms of [Ca²⁺]_i Transient Decrease in Cardiomyopathy of db/db Type 2 Diabetic Mice. Diabetes 55:608-615.
4. Jiang MT, Lokuta AJ, Farrell EF, Wolff MR, Haworth RA, Valdivia HH (2002) Abnormal calcium release, but normal ryanodine receptors, in canine and human heart failure. Circ Res 91:1015-1022.

CRUCIBIOQ

PROTEÍNAS ESTRUCTURALES

Yolanda Saldaña Balmori*
Correo E: balmori@laguna.fmedic.unam.mx



HORIZONTALES

1 Célula alargada y plana de tejido conjuntivo que constituye un elemento esencial en la cicatrización.

*Apoyado por PAPIME EN217504

4 Componente del citoesqueleto, está formado por tubulina.

9 Participa en el citoesqueleto y está constituido por actina.

12 Ácido que es necesario para hidroxilar los residuos de prolina e hidroxiprolina de la colágena; su ausencia es responsable del escorbuto, de la fragilidad sanguínea y de la mala cicatrización de las heridas.

- 13** Proteína principal de la pared celular de las plantas superiores, tiene hasta un 33% de residuos de hidroxiprolina. Esta proteína se encuentra unida a las fibras de celulosa y constituye hasta el 5% del peso seco del vegetal.
- 15** Puentes que en la proteína del cabello pueden ser rotos por la acción de un agente reductor y formarse otros después por la acción de un agente oxidante, esto da como resultado el enrizamiento del cabello lacio.
- 16** Aminoácido con el radical más pequeño, participa formando puentes de hidrógeno de la triple hélice de la colágena.
- 18** Molécula en forma de bastón asociada a los filamentos de actina, formada por dos cadenas polipeptídicas con estructura en alfa hélice enrolladas una alrededor de la otra y ensambladas tipo cabeza-cola. Su unión es no covalente a las cadenas de actina F y se extiende a lo largo de 7 actinas G.
- 19** Proteína periférica de la membrana del eritrocito, participa junto con la espectrina y la banda 4.1 en la forma bicóncava de esta célula, forma que permite que haya una rápida difusión del oxígeno en toda la célula.
- 22** Esta característica de la piel se encuentra aumentada en el síndrome de Ehlers-Danlos debido a una alteración genética de la colágena; en esta patología también hay hiper movilidad de las articulaciones, hemorragias subcutáneas frecuentes y otros síntomas como escoliosis y fragilidad ocular.
- 23** La unión de varios monómeros de esta proteína constituye al filamento delgado de las fibras musculares, participa en la contracción muscular.
- 25** Se denomina así a la insuficiencia de fibrina en la sangre lo que produce defectos de la coagulación, ésta puede ser congénita o adquirida.
- 26** Enzima que permite la formación de aldehídos de la lisina e hidroxilisina, los que son responsables de que haya un mayor entrecruzamiento en la colágena cuando aumenta la edad.
- 29** Proteína de transporte, presente en la célula muscular, tiene la función de almacenar y distribuir el O₂ en el músculo durante la contracción.
- 30** Proteína contráctil presente en la superficie interna de la membrana del eritrocito; contribuye a regular la movilidad de las proteínas de la bicapa.
- 32** Es esencial para que la elastina forme las fibras elásticas del tejido conjuntivo de muchos tejidos, como piel, pulmón, vasos sanguíneos, tendones, músculo, cartílago y zonas ciliares del cristalino. Su alteración es la causa del síndrome de Marfan, una patología autosómica dominante, que entre otras manifestaciones se caracteriza por aracnodactilia.
- 33** Proteína fibrosa formada por polipéptidos de α -hélices enrollados entre sí para formar haces, en su composición abundan los residuos de aminoácidos hidrofóbicos; con los de cisteína se forman puentes disulfuro entre las hélices. Puede resistir a grandes esfuerzos mecánicos, se encuentra en pelo, lana, uñas, cuernos, piel y plumas.
- 34** Proteína fibrosa que forma el tejido conectivo en los mamíferos y aves, constituye una proporción muy importante de las proteínas totales, se encuentra en piel, huesos, tendones, cornea y vasos sanguíneos; formada por tres cadenas polipeptídicas helicoidales izquierdas enrolladas para formar una triple hélice hacia la derecha. Aproximadamente el 30% de los aminoácidos son glicinas y otro 30% son prolina y 4-hidroxiprolina.
- 36** Tipo de proteínas constituidas por cadenas polipeptídicas alineadas en forma paralela, las que pueden ser trenzadas sobre sí mismas en grupos de varios haces formando una macrofibra o bien asociadas para formar láminas presentes entre otros, en las sedas naturales.
- 37** Se forma a partir del fibrinógeno por acción de la trombina. Tiene la forma de un bastón con tres áreas globulares y la propiedad de formar agregados con otras moléculas idénticas, formando un coágulo blando durante la coagulación.
- 38** También se le conoce como conectina, tiene una larga cadena polipeptídica (aproximadamente 26,000 aminoácidos) va desde la línea M hasta el disco Z, regula la longitud del sarcómero y la extensión del músculo.

VERTICALES

- 2** Unidad fundamental de las fibras de colágena.
- 3** Se encuentra presente en la piel, tendones y los vasos sanguíneos formando parte del tejido conjuntivo elástico.
- 5** Constituido por el entrecruzamiento de filamentos de diversas proteínas que forman una red y que proporciona estructura y organización al citoplasma de las células eucarióticas por la participación de microtúbulos, filamentos de actina y filamentos intermedios.
- 6** Glucoproteína transmembranal presente en los eritrocitos; hacia la cara externa de la membrana invariablemente se encuentran 16 cadenas laterales de oligosacáridos abundantes en ácido sialico.

- 7 Se forma por la hidroxilación de la prolina, junto con ésta le confiere rigidez a la colágena.
- 8 Son los fármacos que disuelven a la fibrina, se utilizan en el tratamiento de las trombosis.
- 10 Dentro de este grupo de proteínas de andamiaje están la colágena y la elastina presentes en el tejido conectivo de los vertebrados; la queratina de la piel, pelo y uñas y la espectrina de la membrana de los eritrocitos.
- 11 Proteína que en su interacción con los microtúbulos celulares, origina el movimiento de cilios y flagelos en los eucariotes.
- 14 Líquido intracelular que rodea a las miofibrillas; contiene ATP, enzimas, proteínas, mioglobina, lípidos, minerales, etc.
- 17 La _____ de Duchenne es una enfermedad ligada al cromosoma X, se debe a que la degradación del músculo excede a la regeneración, lo que causa debilidad muscular progresiva que ocasiona la muerte por insuficiencia cardíaca o respiratoria.
- 20 Proteína elástica presente en el exoesqueleto de los insectos, preferentemente en las alas de los insectos voladores.
- 21 Proteína plasmática soluble de 340 KDa que por la acción de la trombina da lugar a la fibrina.
- 24 Tejido presente en cartílagos, tendones, ligamentos, matriz ósea, piel y músculos, entre otros.
- 27 El _____ de Ehlers-Danlos se caracteriza por alteraciones en la síntesis de colágena y se manifiesta por hiperelasticidad de la piel, fragilidad tisular, mayor movilidad articular y posible rotura de arterias.
- 28 Es la proteína más abundante del músculo esquelético (60-70%), es el principal constituyente de los filamentos gruesos de las fibras musculares; tiene actividad de ATPasa y proporciona la energía para la contracción muscular.
- 31 Proteína globular compuesta por tres subunidades: la TN-C que se une al calcio, la TN-I que inhibe la interacción de la actina con los puentes de miosina y la TN-T que está unida a la tropomiosina.
- 32 Proteína presente en los capullos de los gusanos de seda y en las telas de araña, está constituida por capas de hojas β antiparalelas, posee muchos residuos de alanina y glicina.
- 35 Llamado así al peptidoglicano formado por cadenas de polisacáridos entrecruzadas por péptidos, es responsable de la forma y rigidez de la pared celular bacteriana.

RESPUESTA AL PROBLEMA BIOQUÍMICO

Angélica Rueda y Sánchez de la Vega
Correo E: aruedasan@prodigy.net.mx

- Si hay 56 Ci en 1 mmol de ^3H -rianodina y el frasco contiene 0.1 mCi/ml, se tienen 0.1 Ci por litro, lo que es igual a 1.79 μmoles . Entonces la concentración de ^3H -rianodina es de $1.79 \times 10^{-6} \text{ M}$.

- Para convertir las cuentas por minuto (cpm) a desintegraciones por minuto (dpm) tiene que considerar la eficiencia del contador de centelleo líquido y la basal de radiactividad del mismo.

Entonces:

$$\text{dpm} = (\text{cpm totales} - \text{basal de radiactividad}) \div 0.55.$$

- Para convertir los valores de radiactividad de dpm a pmol/mg de proteína hay que considerar que un 1 pmol de ^3H -rianodina (56 nCi) equivale a 123200 dpm.

Los valores en la Tabla 1 quedarán:

- La gráfica de los datos de ambos experimentos queda como se muestra en la figura 1. El mejor ajuste corresponde a una hipérbola equilátera.

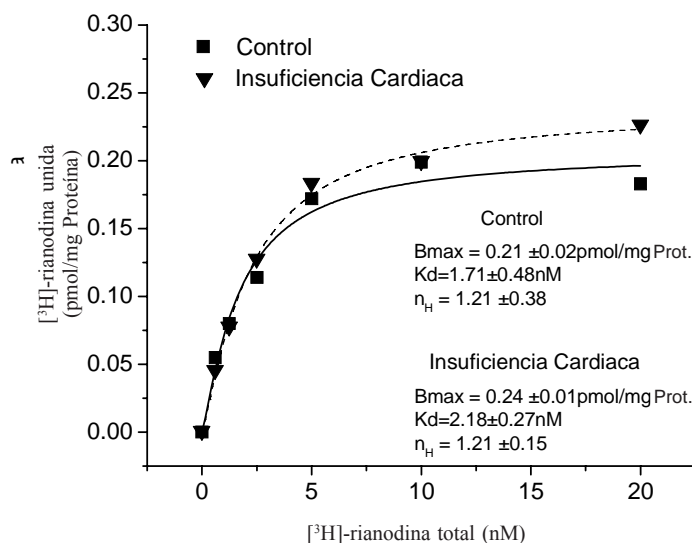


TABLA 1

Unión Total				Unión Específica		
^3H -Rianodina (nM)	cpm Serie 1	cpm Serie 2	Promedio	dpm	dpm	pmol/mg Proteína
0.6	251	265	258	433	338	0.055
1.25	369	423	396	684	493	0.080
2.5	688	523	606	1065	704	0.114
5	1027	873	950	1691	1057	0.172
10	1418	1461	1439	2580	1223	0.199
20	1974	2283	2128	3834	1129	0.183
Unión inespecífica						
0.6	63	82	73	96		
1.25	125	124	125	190		
2.5	224	212	218	360		
5	372	366	369	634		
10	827	706	766	1357		
20	1459	1556	1507	2704		

Y los valores de la Tabla 2 quedarán:

TABLA 2

[³ H]-Rianodina (nM)	Unión Total			Unión Específica		
	cpm Serie 1	cpm Serie 2	Promedio	dpm	dpm	pmol/mg Proteína
0.6	205	226	215	355	279	0.045
1.25	363	367	365	627	475	0.077
2.5	640	548	594	1044	784	0.127
5	920	854	887	1576	1128	0.183
10	1230	1167	1198	2143	1228	0.199
20	1920	1847	1884	3388	1390	0.226
Unión inespecífica						
0.6	58	66	62	76		
1.25	102	105	104	152		
2.5	165	160	163	260		
5	249	284	266	448		
10	499	547	523	915		
20	1083	1155	1119	1998		

La cantidad total de receptores funcionales de rianodina en la fracción sarcoplasmática cardiaca equivale a la unión máxima (B_{max} por sus siglas en inglés). La afinidad de estos receptores a la [³H]-rianodina corresponde a la K_d. A pesar de que los cardiomiocitos del corazón con insuficiencia cardiaca son hipertróficos, la cantidad de receptores de rianodina (normalizada por la cantidad de proteína) no difiere de los controles. Por otra parte, el que la afinidad por la [³H]-rianodina se mantenga, indica que la regulación que ejercen otras moléculas y proteínas accesorias sobre el receptor de rianodina es la misma.

- Los datos de la figura 1 indican que la disfunción cardiaca en la insuficiencia cardiaca congestiva no se puede explicar por una disminución en el número de receptores funcionales de rianodina o por su afinidad por el ligando; los cuales son similares a los que se obtienen en microsomas de un corazón normal (1). Las causas de la disminución en la función cardiaca del corazón hipertrófico son motivo de una fuerte controversia en la actualidad. Algunos grupos de investigación tienen evidencias para proponer que es la modulación del receptor de rianodina (por fosforilación)

la que compromete la función cardiaca. Mientras que otros investigadores han encontrado que es la cantidad de calcio de los reservorios intracelulares, la que esta significativamente disminuida (1).

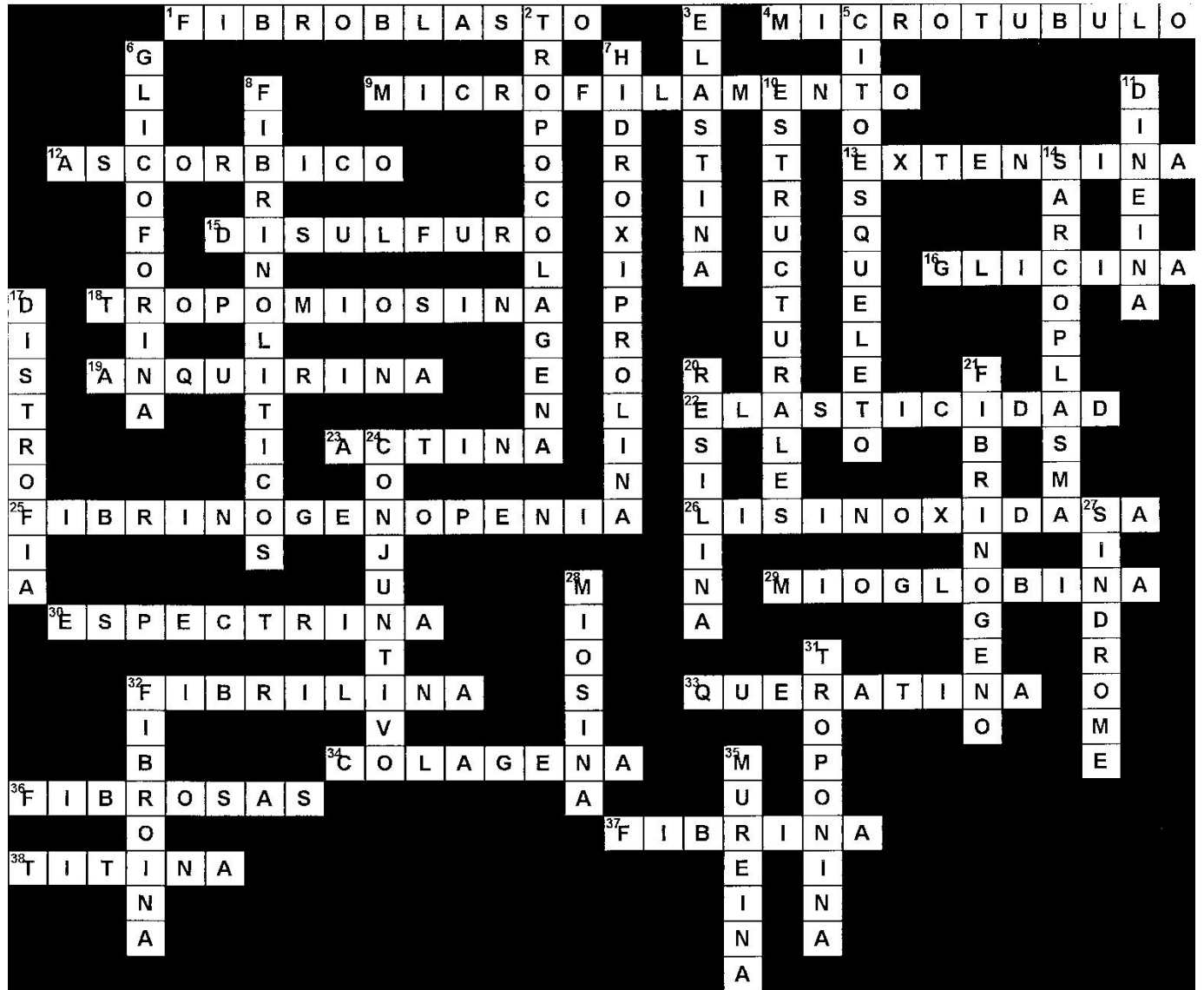
- El receptor de rianodina es un homotetrámero (cada subunidad con un peso molecular aproximado de 560 kDa) por lo que se puede asumir que cada mol de receptor tiene la capacidad de unir de 1 a 4 moles de rianodina. La ocupación del primer sitio de unión por rianodina, podría favorecer o disminuir la afinidad de los siguientes sitios, modificando el coeficiente de cooperatividad o coeficiente de Hill (n_H). En estos experimentos el n_H fue cercano a la unidad. Así podemos asumir que no hay cooperatividad en la unión y que al menos una rianodina se une por cada receptor activo.

REFERENCIAS

- Jiang MT, Lokuta AJ, Farrell EF, Wolff MR, Haworth RA, Valdivia HH (2002) Abnormal calcium release, but normal ryanodine receptors, in canine and human heart failure. *Circ Res* 91:1015-1022.

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ PROTEÍNAS ESTRUCTURALES

Yolanda Saldaña Balmori
Correo E: balmori@laguna.fmedic.unam.mx



INFORME DEL XV CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A. C. (2007)

El XV Congreso de la Asociación se llevó a cabo los días 9 y 10 de agosto de 2007 como parte de las actividades de la Semana de Educación Bioquímica, en el Auditorio Jacinto Pallares de la Facultad de Derecho de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), el Congreso fue inaugurado por el Dr. Edgar Zenteno Galindo, Jefe del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM.

El programa estuvo constituido siete conferencias magistrales, cuatro sobre temas bioquímicos en donde se revisó lo más actualizado de los mismos, tres sobre aspectos didácticos, un taller en donde los profesores asistentes pudieron adentrarse en una técnica didáctica específica, además de la presentación de 38 carteles del trabajo de investigación didáctica de profesores provenientes de diferentes universidades.

Las conferencias que se presentaron fueron: Edema cerebral: aspectos moleculares de un problema clínico por la Dra. Herminia Pasantes del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM; Ciclo celular y su regulación por el Dr. Jorge Vázquez Ramos del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Química de la UNAM; Un nuevo paradigma en el estudio de la estructura-función de las apolipoproteínas humanas por el Dr. Jaime Mas Oliva del Instituto de Fisiología Celular y del Programa Universitario de Investigación en Salud de la UNAM; La cadena respiratoria de las mitocondrias: elementos alternos y supercomplejos por el Dr. Juan Pablo Pardo Vázquez del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM; Estrategias de aprendizaje autorregulado y el desempeño académico de estudiantes universitarios: retos de la evaluación educativa por el Dr. José Martínez Guerrero de la Dirección General de Evaluación Educativa de la UNAM; Visualización molecular para la enseñanza de la Bioquímica por el Dr. Luís Rosales León y la M. en C. Celia Virginia Sánchez Meza, el primero de la Dirección General de Servicios de Cómputo Académico (DGSCA) de la UNAM y la segunda del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM y Estrategias de enseñanza para ser aplicadas en el nivel educativo superior por la Lic. Marta Rosa del Moral Nieto del Centro de Docencia de la Facultad de Ingeniería de la UNAM.

Se estuvo trabajando en el Taller: Fundamentos y construcción de mapas mentales, el que fue impartido por la MDCS María Elena Fonz Cabrera y el MCS Mariano Sánchez Cuevas del Área básica de la Facultad de Medicina de la Universidad Popular Autónoma de Puebla (UPAEP).

El interés de algunos de los profesores de Bioquímica y ciencias afines en mostrar la manera de cómo realizan la docencia se vio reflejado en la presentación de sus carteles. Al Congreso asistieron representantes de varias entidades de la UNAM a saber, de las Facultades de Medicina, de Química, de Psicología, de Estudios Superiores de Cuautitlán y Zaragoza, del Instituto de Investigaciones Biomédicas y del Instituto de Fisiología Celular; de la Universidad Autónoma Metropolitana en sus Unidades de Xochimilco e Iztapalapa; de las Universidades Autónomas de Baja California Sur, del Estado de México, de Papaloapan en Tuxtepec Oaxaca, de Morelos y de Nuevo León; del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV); de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo; de la Universidad Popular Autónoma de Puebla; el Instituto Tecnológico de Chiná en Campeche; el Instituto Tecnológico de Sonora y del Centro Pedagógico Lindavista en México, D. F.

El programadle Congreso incluyó la presentación de dos libros, la Dra. María Teresa Tusié Luna presentó un libro compilado por nuestros colegas los doctores Juan C. Díaz Zagoya y Marco Antonio Juárez Oropeza: Bioquímica, un enfoque básico aplicado a las ciencias de la vida. De igual forma, la Dra. Yolanda Saldaña Balmori presentó la tercera edición del libro Bioquímica de Judith G. Voet y Donald Voet.

La presentación de los trabajos en forma de cartel, se vio completada con la discusión que en la última sesión del Congreso los Dres. Federico Martínez Montes, Leonor Fernández Rivera-Río e Isabel Velásquez López, realizaron acerca de ellos, lo que nos permitió evaluar nuestros trabajos bajo distintas visiones y perspectivas.

En la sesión de Negocios, la Dra. Yolanda Saldaña Balmori agradeció a los Miembros de la Asociación su apoyo durante su gestión como Presidenta y presentó su

informe de labores, mismo que fue aprobado por la Asamblea, con lo que dio por concluido su período como Presidenta de la Asociación. Por otro lado, hizo hincapié en que una forma de difundir los trabajos relacionados con el ejercicio docente en nuestra disciplina es a través del órgano de comunicación de la Asociación, la Revista de Educación Bioquímica, la cual se encuentra en línea electrónica en las páginas: <http://computo.sid.unam.mx/Bioquimica>, <http://www.puis.unam.mx> o bien se puede llegar a ella a través de <http://www.bq.unam.mx>

Asimismo, conforme a los Estatutos de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C. que en su artículo duodécimo dice: "El Presidente de la Mesa Directiva será elegido por los socios de Número en una Reunión de Negocios Ordinaria, la cual se llevará a cabo cada dos años, durante la celebración del Congreso de la Asociación. Para ello, el Consejo Directivo convocará a los Asociados al registro de los candidatos por lo menos con seis meses previos a la fecha de la reunión. Cada candidato deberá expresar por escrito su consentimiento para ser postulado y anexar a su *currículum vitae* el proyecto de trabajo que desarrollaría en caso de ser electo para el cargo de Presidente de la Asociación. El Consejo Directivo analizará la documentación referida, con el fin de cer-

tificar que se cubran los requisitos estipulados en la convocatoria antes de dar a conocer la lista final de candidatos elegidos." Durante la Sesión de Negocios se llevó a cabo la votación para elegir nuevo(a) Presidente(a) y la Dra. Leonor Fernández Rivera-Río fue nombrada por amplia mayoría Presidenta de la Asociación para el período 2007-2009.

Las organizadoras del Congreso deseamos expresar nuestro agradecimiento a todos los que de una u otra manera intervinieron para que fuera posible la realización del mismo, especialmente al apoyo de la Facultad de Medicina de la UNAM, al Jefe de Departamento de Bioquímica de la propia Facultad Dr. Edgar Zenteno Galindo, así como al Área Administrativo del mismo Departamento, al Dr. Fernando Serrano Migallón. Director de la Facultad de Derecho de la UNAM, a las casas Editorial McGraw-Hill y Médica Panamericana y finalmente a la Sra. Marivel Rojas García por su constante y entusiasta apoyo secretarial.

Yolanda Saldaña Balmori
Rocío Salceda Sacanelles
Virginia Sánchez Meza
Leonor Fernández Rivera-Río

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (REB)

La REB es una revista dedicada a la divulgación de temas interesantes y relevantes en el campo de la Bioquímica y sus áreas afines. La Revista está dirigida a profesores y a estudiantes de licenciatura y de posgrado, por lo cual los trabajos que se sometan para su publicación deberán de ser suficientemente claros y explícitos. Los temas se deben de presentar de forma sencilla, organizada y que de manera gradual permitan la comprensión del trabajo.

Se aceptan contribuciones en forma de artículos de revisión y otras comunicaciones que se ajusten a los siguientes lineamientos editoriales:

I. ARTÍCULOS DE REVISIÓN

- 1) Portada. En el primer párrafo incluir el título, el cual debe de ser claro, simple, atractivo y evitar las abreviaturas o, en su caso, definir las al inicio del texto. En el siguiente párrafo se anotarán los nombres completos de los autores, iniciando por el nombre propio completo. La afiliación de los autores se escribirá en el siguiente párrafo, indicando el departamento, la institución, la ciudad y estado, el país y la dirección de correo electrónico del autor responsable. La afiliación de los autores se indicará con números entre paréntesis. Se proporcionará un título breve con un máximo de 60 caracteres.
- 2) Texto. El artículo deberá ser escrito en el procesador de textos "Word", con una extensión máxima de 15 cuartillas a doble espacio, en "Times New Roman 12" como fuente de la letra, sin formato de texto, tabuladores o pies de página. Las figuras y tablas se presentarán separadas del texto.
- 3) Resumen. Se deberán incluir un resumen en idioma español y uno en inglés (Abstract) de no más de diez renglones.
- 4) Palabras clave. Se deberá proporcionar de tres a seis palabras clave en idioma español y en inglés.
- 5) Referencias. Se sugieren no más de 15 citas bibliográficas, tanto específicas como de lecturas recomendadas, lo que obliga a los autores a seleccionar aquellas referencias realmente importantes e informativas. Las referencias se indicarán en el texto con números entre paréntesis de acuerdo a su orden de aparición. Las referencias se enlistarán al final del trabajo y deben contener: apellidos e iniciales de todos los autores, año de publicación entre paréntesis, título completo del artículo y después de un punto, el nombre oficial de la revista abreviado como aparece en el Current Contents, número del volumen y antecedido por dos puntos, el número de la primera y última páginas, de acuerdo con el siguiente ejemplo:

Martin GM, Austad SN, Johnson TE (1996) Generic analysis of ageing: role of oxidative damage and environmental stresses. *Nature gen* 113:25-34.

Los artículos en libros deberán citarse de la siguiente forma:

Wood KJ (1992) Tolerance to alloantigens. En: *The Molecular Biology of Immunosuppression*. Editor: Thomson A W. John Wiley and Sons Ltd, pp 81-104.

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

Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM (1993) *Principles of Biochemistry*. Worth Publishers, New York, NY, USA, p 1013.

- 6) Figuras y Tablas. Se aceptarán como máximo seis ilustraciones, incluyendo figuras y tablas. Las figuras se pueden presentar en formato "jpg" o integradas en un archivo de "Power Point" o del mismo "Word" separadas del texto del artículo. Las figuras deben de estar en blanco y negro, sin fondo ni sombreados. Las tablas deben de estar en "Word" sin formatos especiales, separadas del texto del artículo. Las figuras y las tablas se deberán numerar con

arábigos. Las leyendas y los pies de figuras se deberán presentar en una hoja aparte. Se deberá considerar que las figuras y las tablas se reducirán a la mitad o a un cuarto de las dimensiones de una hoja tamaño carta; las letras y números más pequeños no deben ser menores de dos milímetros. En caso de emplear figuras previamente publicadas, deberá darse 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 deberá citarse con la abreviatura, la primera letra mayúscula (Fig 2). Las tablas siempre llevarán la primera letra a mayúscula (Tabla 2). Para la versión electrónica de la revista se pueden admitir figuras a color, en tal caso se deberán de enviar ambos formatos en blanco y negro y en color.

- 7) Abreviaturas. Las abreviaturas poco comunes que se utilicen en el texto deberán definirse entre paréntesis, la primera vez que se utilicen.

II) OTRAS COMUNICACIONES

- 1) Los temas de las otras comunicaciones pueden ser muy variados; desde resúmenes de artículos científicos interesantes, relevantes o significativos, información científica o académica de interés general, avisos de reuniones académicas y cursos, bolsa de trabajo o comentarios de artículos publicados previamente en la REB, cartas al editor, etcétera.
- 2) El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de una manera explícita en no más de dos páginas.
- 3) Se aceptará un máximo de dos referencias que se incluirán entre paréntesis en el texto, como se indica en el inciso I-5. Se podrá incluir una figura o una tabla, con las características que se indican en el inciso I-6.

Los manuscritos que no cumplan con las especificaciones de la revista no serán aceptados de primera instancia para su revisión. Los manuscritos serán evaluados por tres revisores, quienes opinarán sobre la relevancia del trabajo en un lapso no mayor de dos meses. Las correcciones y sugerencias de los revisores serán enviadas al autor responsable para su corrección e incorporación en el manuscrito. El manuscrito corregido por los autores deberá ser devuelto a la revista, en un lapso no mayor a 30 días; de otra forma se considerará como un manuscrito enviado por primera vez. Una vez aceptado el trabajo, las pruebas de galera, se enviarán al autor responsable.

Los archivos electrónicos se deberán enviar a la Revista de Educación Bioquímica como archivos adjuntos (reb@bq.unam.mx), con atención al Editor en Jefe y a partir de una dirección de correo electrónico que será considerada como la dirección oficial para la comunicación con los autores. El autor responsable deberá identificar plenamente su adscripción con teléfono y dirección postal para comunicaciones posteriores. En el texto del mensaje se debe expresar la solicitud para considerar la posible publicación del artículo, el título del mismo, los nombres completos de los autores y su adscripción institucional, así como el número, tipo y nombre de los archivos electrónicos enviados.