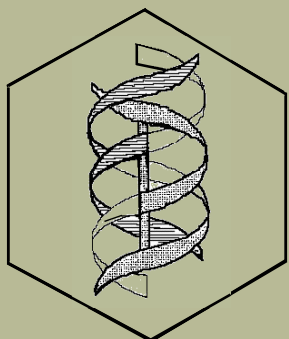


REB 2008

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. 27

No. 4

DICIEMBRE 2008

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

LEONOR FERNÁNDEZ RIVERA RÍO

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

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

ANA CECILIA ZAZUETA MENDIZÁBAL

Departamento de Bioquímica
Instituto Nacional de Cardiología
“Dr. Ignacio Chávez”

ALEJANDRO ZENTELLA DEHESA

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

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

JORGE LUIS RICO PÉREZ

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
Universidad Nacional Autónoma de México

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, AC. 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 (2008)

GUILLERMO ÁLVAREZ LLERA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

CLORINDA ARIAS ÁLVAREZ

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

ROSSANA ARROYO VERÁSTEGUI

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

IRMA BERNAL LUGO

Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

ROSALÍA CAMACHO REYNOSO

Facultad de Química
Universidad Autónoma de Querétaro

KARLA GUADALUPE CARVAJAL AGUILERA

Instituto Nacional de Pediatría

HELIODORO CELIS SANDOVAL

Instituto de Fisiología Celular
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

MAURICIO DÍAZ MUÑOZ

Centro de Neurobiología
Universidad Nacional Autónoma de México

FERNANDO ENRÍQUEZ RINCÓN

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

MARÍA LUISA FANJUL-MOLES

Facultad de Ciencias
Universidad Nacional Autónoma de México

MARINA GAVILANES RUIZ

Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

JOSÉ LUIS GÓMEZ OLIVARES

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

LUIS ENRIQUE GÓMEZ QUIROZ

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

LUIS EUGENIO GONZÁLEZ DE LA VARA

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

AGUSTÍN GUERRERO HERNÁNDEZ

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

ROLANDO HERNÁNDEZ MUÑOZ

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

LUIS ALONSO HERRERA MONTALVO

Instituto Nacional de Cancerología

DALILA MARTÍNEZ ROJAS

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

JULIO EDUARDO MORÁN ANDRADE

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

HERMINIA PASANTES MORALES

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

MA. DE LA LUZ RAZO JIMÉNEZ

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

TAMARA LUTI ROSENBAUM EMIR

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

RAFAEL SAAVEDRA DURÁN

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

PATRICIA MARGARITA TATO ZALDÍVAR

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

HECTOR VÁZQUEZ MEZA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

ARTURO EDGAR ZENTENO GALINDO

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

CONTENIDO

COMITÉ EDITORIAL

EDITORIAL

PREMIO NOBEL DE MEDICINA 2008 A LOS
DESCUBRIDORES DEL VIRUS DEL SIDA Y DEL
PAPILOMA HUMANO EN UN TIEMPO RECORD:
POR PRIMERA VEZ UNA MUJER BIOQUÍMICA
FRANCESA RECIBE ESTA PRESEA
Graciela Meza Ruiz109

ARTÍCULOS

EL ORIGEN DE LA ACIDEZ EN LA GLUCOLISIS
ANAEROBIA.
Aurelio Mendoza Medellín.....111

LA FLUORESCENCIA DE LA CLOROFILA A
COMO HERRAMIENTA EN LA INVESTIGACIÓN
DE EFECTOS TÓXICOS EN EL APARATO
FOTOSINTÉTICO DE PLANTAS Y ALGAS
Sergio González Moreno, Hugo Perales Vela y
Martha O Salcedo Alvarez119

LA ARQUITECTURA NUCLEAR Y SU DINÁMICA
Héctor Rincón Arano y Félix Recillas Targa130

OTRAS COMUNICACIONES

CRUCIBIOQ
METABOLISMO DEL ETANOL
Yolanda Saldaña Balmori.....138

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ
METABOLISMO DEL ETANOL
Yolanda Saldaña Balmori.....141

INFORME DE ACTIVIDADES REALIZADAS
DURANTE EL XVI CONGRESO DE LA
ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES
DE BIOQUÍMICA
Leonor Fernández Rivera-Río142

FOURTH WORKSHOP IN COMPARATIVE
ASPECTS OF OXIDATIVE STRESS IN
BIOLOGICAL SYSTEMS.....143

ÍNDICE ANUAL DE LA REVISTA
DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 2008.....144

INSTRUCCIONES PARA LOS
COLABORADORES DE LA REVISTA DE
EDUCACIÓN BIOQUÍMICA.....147

EDITORIAL

NOBEL DE MEDICINA 2008 A LOS DESCUBRIDORES DEL VIRUS DEL SIDA Y EL DEL PAPILOMA HUMANO EN UN TIEMPO RECORD: POR PRIMERA VEZ UNA MUJER BIOQUÍMICA FRANCESA RECIBE ESTA PRESEA

"Nunca antes fueron la Investigación Científica y la Medicina trabajando a dúo, tan rápidas para descubrir, identificar el agente etiológico y ofrecer tratamiento para la enfermedad que producen". Así se expresó el Comité Nobel al anunciar la concesión del preciado galardón 2008 en Medicina, recibido por tres eminentes científicos europeos, el pasado 10 de Diciembre del 2008.

Efectivamente, el trabajo de los franceses Françoise Barré-Sinoussi y Luc Montagnier en el virus del SIDA (VIH) y el del Alemán Harald Zur Hausen por el descubrimiento del virus del papiloma humano cambiaron para siempre la historia de dos enfermedades con impacto global. Los investigadores recibirán 1.4 millones de dólares, la mitad para Zur Hausen de 72 años y la otra mitad será compartida por Barré-Sinoussi y Montagnier, de 61 y 76 años de edad, respectivamente.

La búsqueda del agente etiológico de la enfermedad del SIDA se inició a principios de los años ochenta por un equipo de investigación convocado por Luc Montagnier. Tal empresa dio fruto ya en el 1983, cuando el grupo anunció el aislamiento del virus causante del síndrome de inmunodeficiencia: la primera autora del trabajo que se publicó en Science fue ¡Françoise Barré-Sinoussi!. Esta científica, actual integrante del Consejo Directivo de la Sociedad Internacional del SIDA, es la persona más importante en esta historia, comentó el Dr. Pedro Cahn, ex-presidente de la mencionada Sociedad.

Barré-Sinoussi y Montagnier postularon la presencia de un retrovirus al detectar actividad de la transcriptasa reversa en glóbulos blancos y ganglios de pacientes con SIDA, lo que abrió las puertas a las pruebas de diagnóstico y detección del VIH en la sangre de donantes y permi-

tió la investigación de fármacos contra esta enfermedad, lo que redundará, no cabe duda, en el próximo desarrollo de una vacuna eficaz.

El otorgamiento del Nobel para el binomio Barré-Sinoussi / Montagnier acaba con la vieja pugna acerca de la primacía del hallazgo de éstos ó del americano Robert Gallo, señalado por muchos como co-descubridor del VIH.

Como en otras ocasiones, el Nobel hace felices a unos y entristece a los que no lo reciben. Llama la atención la sencillez con la que el Dr. Gallo reconoció que su laboratorio retrasó un año la publicación de su hallazgo del virus del SIDA, lo que dio la primicia al grupo de Montagnier; a su vez éste se apresuró a declarar que el Dr. Gallo también lo merecía, puesto que ambos recibieron el Premio Príncipe de Asturias en las Ciencias en el año 2000 por dichos hallazgos.

El Nobel 2008 reconoce asimismo a un tercer virólogo, también europeo: el alemán Harald Zur Hausen de la Universidad de Düsseldorf, director del Centro Alemán para las Investigaciones sobre el Cáncer.

Zur Hausen de 72 años se enfrentó a los dogmas vigentes en los años setenta y postuló que el virus del papiloma humano (HPV) causaba el cáncer cervical y dedicó casi una década a ésta búsqueda hasta que en 1983 (año en que se dio a conocer también el aislamiento del HIV) logró aislar el virus en biopsias de cáncer cervical, el más común y el quinto que más muertes causa entre las mujeres del mundo.

Su trabajo permitió el desarrollo de vacunas profilácticas contra la infección por HPV aunque éstas siguen siendo muy costosas en la actualidad.

La concesión del Nobel a Zur Hausen no escapa a la polémica, puesto que se comenta que al menos un integrante del Comité Nobel está relacionado con los laboratorios que fabrican las vacunas contra el papiloma humano, lo que pudo haber influido en la decisión que se inclinó por Zur Hausen. De cualquier manera, no se puede

soslayar la importancia de los hallazgos de estos 3 científicos que han hecho tanto bien a la humanidad.

Graciela Meza Ruiz
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

EL ORIGEN DE LA ACIDEZ EN LA GLUCÓLISIS ANAEROBIA*

Aurelio Mendoza Medellín

RESUMEN

Cuando se hace referencia al metabolismo anaeróbico de la glucosa, en muchos cursos de Bioquímica se afirma que el producto de dicho proceso es el ácido láctico. Sin embargo, las evidencias indican que la lactato deshidrogenasa produce lactato y no ácido láctico. Por otra parte, está demostrado que al catabolizarse glucosa anaeróbicamente en el organismo del mamífero, se produce acidez. Pero ¿cuál es el origen de los hidrogeniones durante la anaerobiosis?. Una corriente de pensamiento sostiene que es la hidrólisis del ATP la fuente de los hidrogeniones y otra corriente considera que es más bien el agua la que aporta los hidrogeniones para preservar la electroneutralidad del medio cuando aumenta la concentración de aniones, como cuando se producen cantidades importantes de lactato.

PALABRAS CLAVE: Ácido láctico, glucólisis anaerobia.

ABSTRACT

When anaerobic metabolism of glucose is dealt in many courses of Biochemistry it is affirmed that the final product of such a process is lactic acid. However, the evidence points out that lactate dehydrogenase produces lactate and not lactic acid. On the other hand, it has been shown that when glucose is catabolized anaerobically in mammalian organisms, acidity is produced. But, which is the origin of hydrogen ions during anaerobiosis? One trend holds that the hydrolysis of ATP is the source of hydrogen ions, but another trend sustains that, since electroneutrality has to be preserved in any condition, ionization of water allows to keep equilibrium between cations and anions when anion concentration is increased as occurs when large quantities of lactate are produced.

KEY WORDS: Lactic acid, anaerobic glycolysis.

En muchos cursos de Bioquímica se enseña que el metabolismo anaeróbico de la glucosa produce ácido láctico, al cual se atribuyen ciertas propiedades, como la capacidad de producir dolor (calambres) en los músculos que han sido ejercitados en forma rápida e intensa. Sin embargo, la exposición de la vía metabólica involucrada, es decir la glucólisis anaeróbica, en prácticamente todos los libros de Bioquímica, termina con la reacción que cataliza la lactato deshidrogenasa, en la cual el piruvato se transforma en lactato y no ácido láctico.

Por otra parte, es un hecho incuestionable que el catabolismo anaeróbico de la glucosa produce acidez, tan

ciertamente que la activación intensa de dicho proceso metabólico puede producir la llamada acidosis láctica, es decir la producción de un exceso de hidrogeniones concurrente con la producción de un exceso de lactato en condiciones de hipoxia tisular asociada con alteraciones de la función ventilatoria o cardíaca o bien en patologías hepáticas, ya que el hígado es el principal órgano que remueve el lactato de la sangre para transformarlo en glucosa. También diversos tóxicos como el etanol, el etilenglicol y otros, alteran el metabolismo en el sentido de la hiperproducción de ácido láctico.

El propósito del presente artículo

es definir la relación que existe entre lactato y ácido láctico, así como revisar y comentar el tema del origen de la acidez que se coproduce con el lactato al ocurrir la glucólisis en condiciones anaeróbicas.

Ácido láctico y lactato

El ácido láctico es un ácido orgánico de tres carbonos, uno de los cuales forma el único grupo carboxilo de la molécula. El ácido láctico es la forma molecular, por tanto tiene protonado su carboxilo (COOH), mientras que el lactato presenta ionizado dicho grupo funcional (COO^-) por la liberación del hidrógeno en forma de hidrogenión (H^+). Ambas son formas

*Recibido: 8 de abril de 2008 Aceptado: 14 de octubre de 2008

Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, Estado de México, México. Correo E: menmeau777@hotmail.com

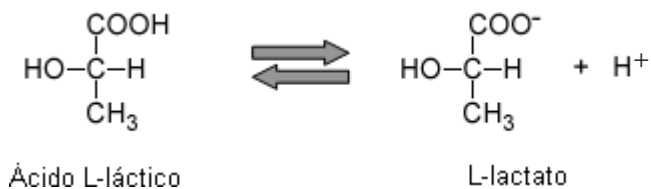


Figura 1. El ácido láctico se ioniza en lactato y un hidrogenión. A pH 3.86 (pK del ácido láctico), la ionización ha ocurrido en el 50% de las moléculas. A valores de pH más bajos predominan las moléculas de ácido láctico y a valores de pH mayores predominan las moléculas de lactato, de manera que al pH intracelular o al pH fisiológico en la sangre, virtualmente el 100% de sus moléculas está en forma de lactato.

interconvertibles a valores de pH bajos ya que el pK del ácido láctico es de 3.86 (Fig. 1) (1). Esto significa que a pH 3.86, la mitad de las moléculas estarían como ácido láctico y la otra mitad como lactato. Si el pH se disminuye, aumenta la proporción ácido láctico vs. lactato, pudiendo alcanzarse un valor de pH en el que el 100% de las moléculas sean de ácido láctico. Por el contrario, al aumentar el pH por arriba de 3.86, disminuye dicha proporción, llegando a estar virtualmente solo la forma de lactato al pH fisiológico.

¿Ácido láctico o lactato en anaerobiosis?

La fuente del lactato es el piruvato, el cual se forma a partir de glucosa o de algunos aminoácidos, en particular de alanina (Fig. 2). De estos procesos, probablemente la formación de piruvato a partir de glucosa es el más conocido por los estudiantes de Bioquímica en el área médico-biológica. Ellos aprenden que el catabolismo aeróbico de la glucosa produce piruvato, el cual se interna en las mitocondrias para ser oxidado, produciendo tres moléculas de CO_2 por cada una de piruvato, proceso que libera la mayor parte de la energía contenida originalmente en la glucosa.

El catabolismo mitocondrial del piruvato solamente opera en presencia de suficiente oxígeno y cuando este elemento no se halla disponible, el piruvato se acumula en el citosol, donde se transforma en lactato (Fig. 2).

Esta fase anaeróbica del catabolismo de la glucosa ocurre típicamente en el músculo esquelético sometido a ejercicio de cierta intensidad y rapidez, y en los eritrocitos, cuyo metabolismo permanentemente es anaeróbico a pesar de su abundancia de oxígeno debido a que son células que carecen de mitocondrias.

¿Entonces, el metabolismo anaeróbico produce lactato y no ácido láctico? La respuesta es afirmativa porque la glucólisis produce la forma ionizada del ácido láctico a partir de la forma ionizada del ácido pirúvico (Fig. 2).

Por lo tanto, si la glucólisis produce lactato, la única forma de aceptar

que el producto real del proceso fuera ácido láctico sería que la misma vía produjera en alguna de sus reacciones un hidrogenión por cada molécula de lactato. Si se revisan una a una las reacciones de la vía glucolítica (2), se podrá observar que en la primera etapa de la vía ocurren dos reacciones de fosforilación de hexosas, una la glucosa y la otra la fructosa 6-fosfato, en cada una de las cuales se libera un hidrogenión derivado del radical -OH en el que se instala el grupo fosfato proveído por el ATP (Fig. 3).

Sin embargo, estos dos hidrogeniones no constituyen un producto neto de la vía ya que en la segunda parte de la glucólisis ocurre la reacción catalizada por la piruvato cinasa, en la cual el fosfoenol-piruvato se convierte en piruvato al tiempo que se transfiere su grupo fosfato a una molécula de ADP para formar ATP.

Esta reacción requiere el aporte de un hidrogenión del medio (Fig. 4) y debido a que se producen dos moléculas de fosfoenol-piruvato por cada molécula de glucosa catabolizada, re-

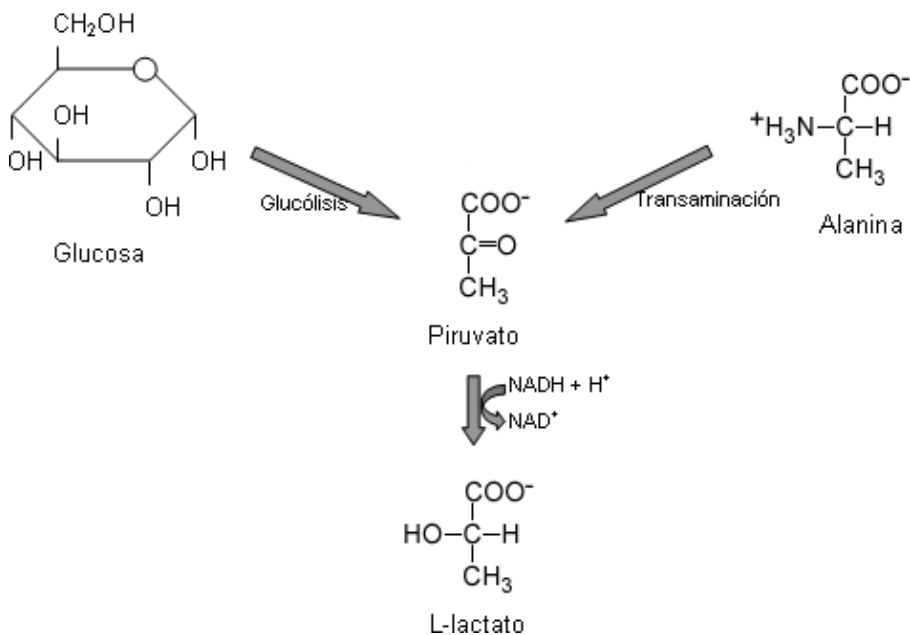


Figura 2. El lactato se forma a partir de piruvato, producido a partir de glucosa (vía glucolítica) y de la transaminación del aminoácido alanina. Observe que la reacción consiste en la reducción del piruvato con dos hidrógenos que dona el cofactor $\text{NADH} + \text{H}^+$.

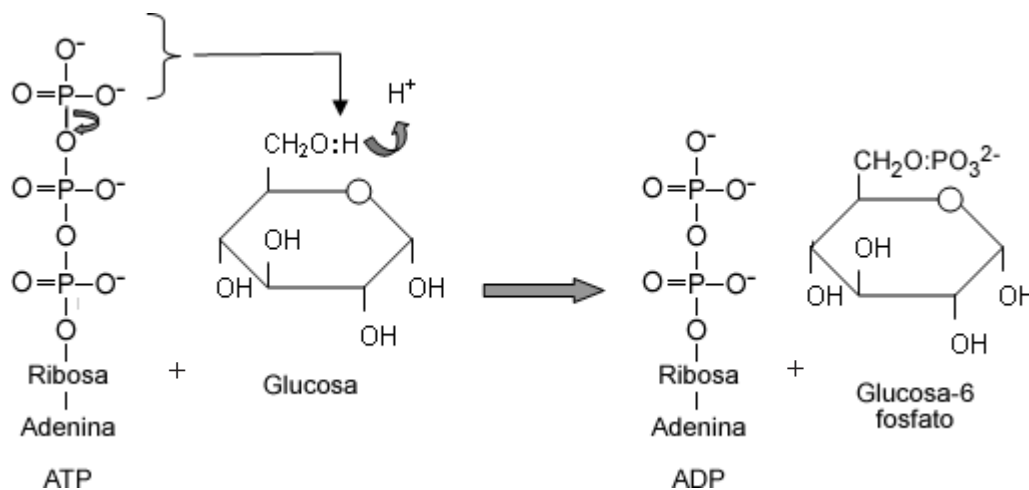


Figura 3. Fosforilación de la glucosa a partir de ATP. Observe que el grupo transferido es PO_3^{2-} con una carga positiva en el átomo de fósforo, debido a que en el ATP, el par electrónico entre dicho átomo y el de oxígeno (flecha pequeña) se queda en este último. El grupo PO_3^{2-} se combina entonces con el oxígeno del radical $-\text{OH}$ del carbono 6 de la glucosa, que adquiere carga negativa al desalojar el hidrógeno como hidrogenión (flecha mediana). La carga positiva del fósforo neutraliza la carga negativa del oxígeno en el ADP involucrado. La reacción de fosforilación de la fructosa 6-fosfato a fructosa 1, 6-bisfosfato ocurre por un mecanismo idéntico, por lo cual también libera un hidrogenión.

sulta que se utilizan dos hidrogeniones por cada molécula de glucosa, igualando así la cantidad de hidrogeniones producidos.

Localizada entre las reacciones de fosforilación de hexosas y la reacción que forma piruvato, la vía glucolítica presenta otra reacción que involucra hidrogeniones. Se trata de la transformación de gliceraldehído 3-fosfato en 1, 3-bisfosfoglicerato, catalizada por

la enzima gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa.

En esta reacción, el grupo aldehído del gliceraldehído 3-fosfato reacciona con fosfato inorgánico, transformándose en un derivado ácido doblemente fosforilado, al tiempo que los reactivos pierden dos hidrógenos que reducen al cofactor de la enzima, NAD^+ , produciendo NADH y liberando un hidrogenión al medio (Fig. 5).

En resumen, la vía glucolítica anaeróbica a partir de una molécula de glucosa incluye cuatro reacciones en las que se hallan involucrados los hidrogeniones: la fosforilación de la glucosa, la fosforilación de la fructosa 6-fosfato, la oxidación del gliceraldehído 3-fosfato a 1, 3-bisfosfoglicerato y la formación de piruvato a partir de fosfoenolpiruvato. En cada una de las dos últimas reacciones se

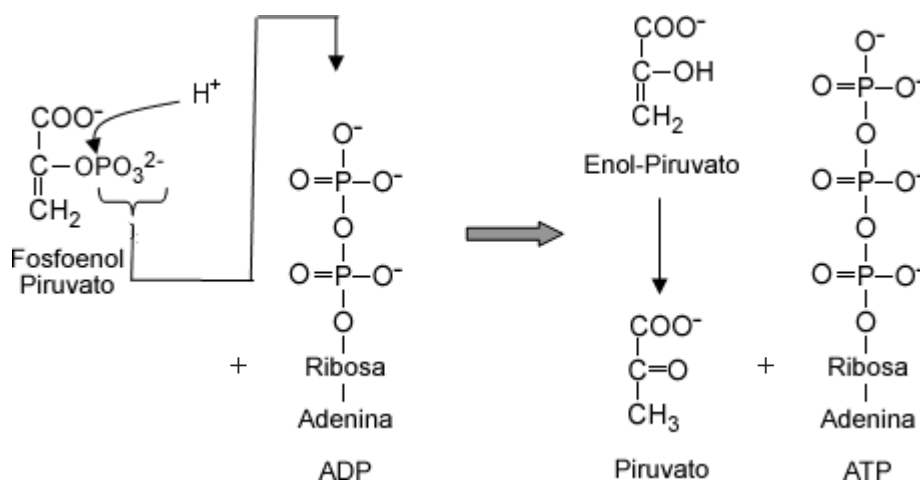


Figura 4. Reacción catalizada por la piruvato cinasa, en la cual el fosfoenolpiruvato transfiere al ADP un grupo fosfato con carga positiva en el fósforo ya que el electrón de covalencia de éste con el oxígeno en el fosfoenolpiruvato se queda en el oxígeno, generándole una carga negativa que es neutralizada por un hidrogenión del medio, produciéndose entonces enol-piruvato, que isomeriza de manera espontánea a ceto-piruvato, mejor conocido simplemente como piruvato. Por su parte, la carga positiva del grupo fosfato escindido neutraliza la carga negativa del oxígeno que pertenece al fosfato de posición extrema en el ADP, resultando ATP. Por lo tanto, cada vez que ocurre esta reacción se consume un hidrogenión.

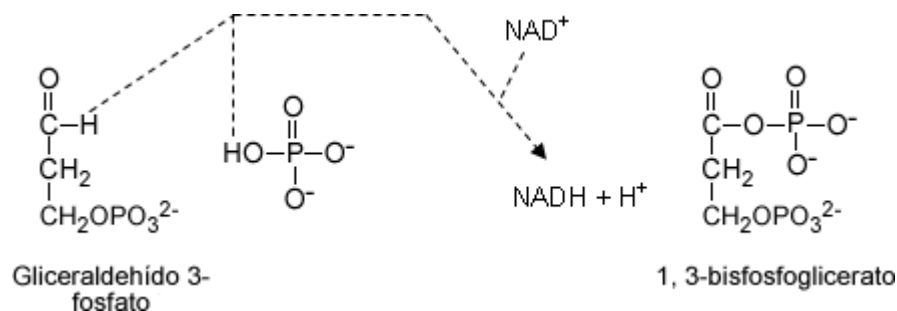


Figura 5. Reacción catalizada por la enzima gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa, en la cual el hidrógeno del grupo aldehído del gliceraldehído 3-fosfato y el hidrógeno del fosfato reducen la molécula del cofactor enzimático NAD^+ . Éste solo acepta dos electrones y un protón, de manera que al reducirse se libera al medio un segundo protón (H^+). Como puede observarse, se trata de una reacción de oxido-reducción en la que ocurre la reducción del cofactor al tiempo que se oxida el grupo aldehído a ácido.

forman dos moléculas del metabolito correspondiente por cada molécula de glucosa que ingresa a la glucólisis.

Debido a que en condiciones anaeróbicas se produce lactato a partir de piruvato mediante la utilización del NADH producido en la reacción catalizada por la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (Fig. 5), los hidrogeniones asociados al NADH se

utilizan en la transformación de piruvato a lactato (Fig. 2). De esta manera, la liberación y el consumo de hidrogeniones en la vía glucolítica quedan mutuamente neutralizados puesto que la fosforilación de las dos hexosas libera dos hidrogeniones (Fig. 3), mientras que la formación de dos moléculas de piruvato consume dos hidrogeniones (Fig. 4). La figura 6

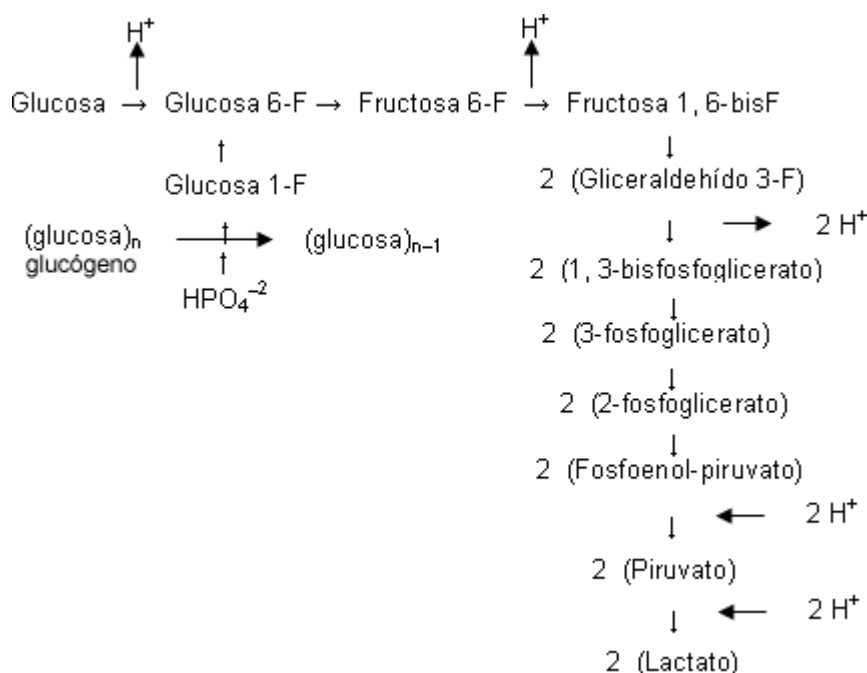


Figura 6. Esquema de la vía glucolítica indicando las reacciones específicas en las que se liberan o captan hidrogeniones. Cuando el proceso se inicia a partir de glucosa, el número de hidrogeniones liberados iguala al de los captados, pero cuando se cataboliza glucógeno, se produce glucosa 6-fosfato sin gasto de ATP y sin liberación de un hidrogenión por lo cual el efecto neto es la captación de un hidrogenión a partir del medio.

esquematiza la vía glucolítica, destacando las reacciones que involucran pérdida o captación de hidrogeniones.

La glucólisis produce pues, lactato y no ácido láctico. De hecho, el grupo carboxilato (COO^-) del lactato queda establecido como tal desde la reacción en que el 1, 3-bisfosfoglicerato se transforma en 3-fosfoglicerato, catalizada por la enzima fosfoglicerato cinasa (Fig. 7). Posteriormente se forman en secuencia 2-fosfoglicerato, fosfoenol-piruvato, piruvato y lactato (Fig. 6). En todos estos metabolitos se mantiene el mismo grupo carboxilato del 3-fosfoglicerato.

Cuando existe disponibilidad de glucógeno, como ocurre en el tejido muscular, el proceso glucogenolítico produce glucosa 1-fosfato ya que se trata de un proceso fosforolítico en el que la enzima correspondiente utiliza fosfato inorgánico. La glucosa 1-fosfato se isomeriza posteriormente a glucosa 6-fosfato y ésta se incorpora a la glucólisis anaerobia sin haber gastado la molécula de ATP que requiere la glucólisis cuando ocurre a partir de glucosa y por lo tanto no se libera ningún hidrogenión en esta etapa (Fig. 8).

De acuerdo con las consideraciones antes hechas, el efecto neto de la glucólisis anaeróbica que sigue a la activación de la glucogenólisis es la captación de un hidrogenión, pues se utilizan 4 hidrogeniones del medio y solo se liberan tres (Fig. 6), es decir que cuando parte de glucógeno, la vía no solo no acidifica el medio sino que genera un efecto alcalinizante.

De esta manera, en los tejidos que catabolizan glucógeno, la glucólisis anaeróbica tendría más bien un efecto neutralizante y no promotor de la acidez.

Origen de los hidrogeniones

Desde hace décadas se ha atribuido la acidificación del medio en que se producen concentraciones crecientes de lactato a la hidrólisis del ATP (3, 4).

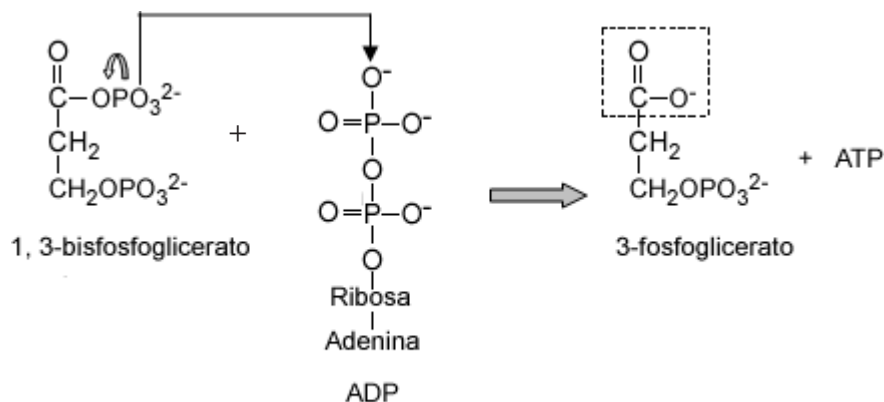


Figura 7. Reacción catalizada por la enzima fosfoglicerato cinasa en la cual se transfiere el fosfato de posición 1 del derivado bisfosforilado a una molécula de ADP para formar 3-fosfoglicerato y ATP. En esta reacción se forma el carboxilato (cuadro con línea discontinua) que al cabo de las transformaciones glucolíticas formará parte del lactato.

Efectivamente, la hidrólisis de una molécula de ATP a ADP y fosfato inorgánico ocurre con liberación de un hidrogenión (Fig. 9).

Ahora bien, si la hidrólisis del ATP es la fuente de los hidrogeniones durante el catabolismo anaeróbico de la glucosa, cabría esperar que los productos generados (fosfato y ADP) alcanzaran concentraciones importantes durante la fase anaeróbica, pues si la hidrólisis de ATP libera hidrogeniones, su síntesis a partir de ADP y fosfato inorgánico, evidentemente requiere el aporte de hidrogeniones

(reacción inversa de la figura 9). Preservándose el ADP y el fosfato sin combinar, se esperaría una acidificación neta del medio.

En relación con esto se realizó un experimento en un voluntario induciendo una fase isquémica en el antebrazo durante más de 6 minutos después de dos minutos de someterlo a contracción máxima. Se encontró que la concentración de fosfato inorgánico aumentó casi cinco veces durante la fase de contracción y se mantuvo alta durante todo el periodo de isquemia, mientras que el pH dismi-

nuyó más de una unidad y se mantuvo constante en 6.1 durante la isquemia. En cuanto se reperfundió el tejido, la concentración de fosfato empezó a disminuir y el pH empezó a aumentar, normalizándose ambos parámetros después de 15 minutos (5).

Por otra parte, en isquemia total en hígado de rata mantenida durante 30 minutos, una hora o más, inducida después de ayuno de 48 horas, se observó una caída rápida de la concentración de ATP y concomitantemente un incremento rápido seguido por una disminución gradual de la concentración de ADP. Al tiempo que disminuía la concentración de ADP se incrementaba la de AMP, manteniéndose ésta alta durante todo el periodo de isquemia. Asimismo se registró incremento de la concentración de hipoxantina, xantina y urato durante la isquemia (5).

El incremento de la concentración de AMP en el experimento descrito se explica por la combinación entre moléculas de ADP que ocurre en condiciones de requerimiento agudo de energía por efecto de la enzima denominada adenilato cinasa (o adenilato miocinasa), con la generación de ATP ($ADP + ADP \rightarrow ATP + AMP$). El

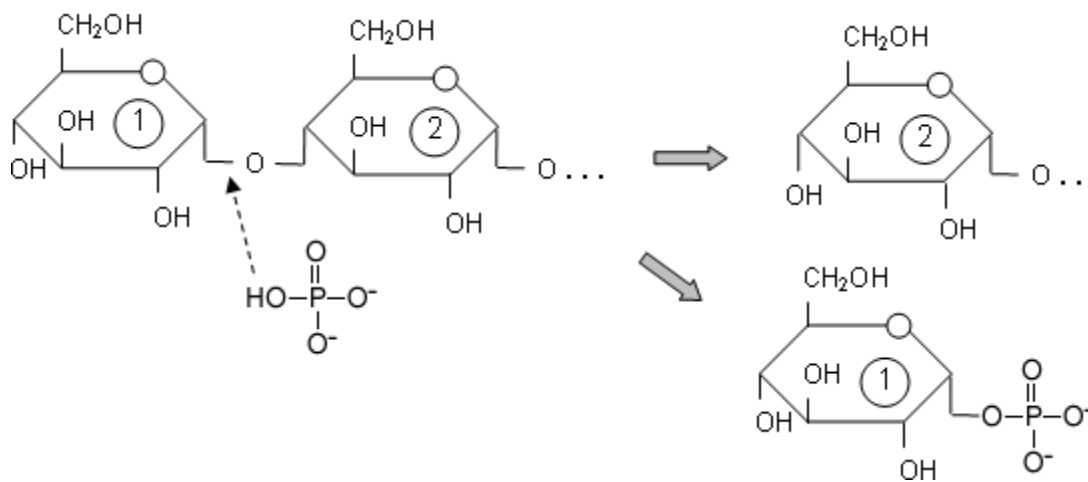


Figura 8. Reacción glucogenolítica catalizada por la enzima glucógeno fosforilasa a. En el esquema se presentan los dos últimos residuos de glucosa en el extremo no reductor de una rama de glucógeno. El fosfato queda unido al carbono 1 del último residuo de glucosa (marcado con el número 1) mientras que el hidrógeno del fosfato queda formando el OH del carbono 4 del penúltimo residuo (marcado con el número 2) que por efecto de la reacción se convierte en el último residuo de la rama.

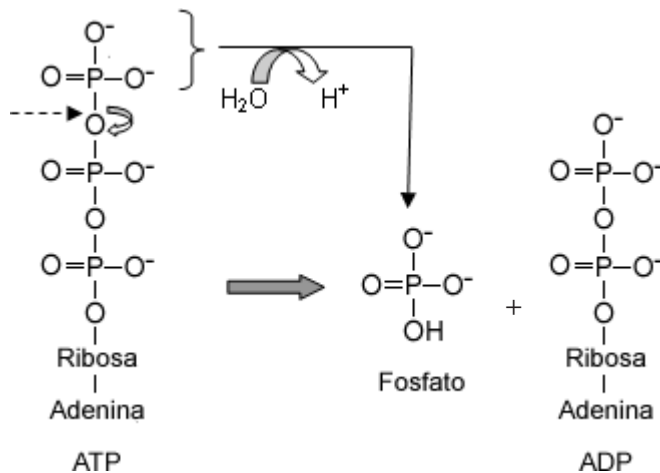


Figura 9. Reacción de hidrólisis del ATP. Observe que el enlace que se hidroliza (flecha discontinua) libera el grupo PO_3^{2-} que con el ion OH del agua forma fosfato dibásico (HPO_4^{2-}), mientras que el hidrogenión derivado del agua queda libre.

AMP es inestable y es fácilmente catabolizado, lo cual explica la producción de urato y sus precursores (6).

Los resultados de los dos experimentos son consistentes con la idea de que el ATP es la fuente de los hidrogeniones durante la anaerobiosis. De hecho, si esto es así, resultaría que los hidrogeniones aparecerían antes que el lactato una vez establecida la fase de anaerobiosis pues el requerimiento energético determinaría la inmediata utilización del ATP, relativamente abundante al momento de cambiar la condición aeróbica a la anaeróbica. La respuesta a la depleción de ATP que entonces se genera es la activación de la vía glucolítica anaerobia, que sin embargo, no logra restituir todo el ATP que tenía la célula antes de que se limitara el aporte de oxígeno. Así es como explican algunos investigadores la acidificación que se asocia con la anaerobiosis (7).

En otro trabajo, realizado en corazones de hurones, se bloqueó la glucólisis y luego se añadió cianuro para impedir la síntesis de ATP por la vía aeróbica. En esas condiciones se registró la concentración de ATP, fosfato y fosfato de creatina, así como la alteración que sufría el pH. En uno

de los experimentos se hizo una preincubación en medio sin glucosa con el propósito de que las células se depletaran de glucógeno y luego se aplicó el cianuro. Como resultado del experimento se observó que desaparecían lentamente el fosfato de creatina y el ATP y a la par se registró un incremento importante de fosfato inorgánico y acidificación (baja de pH de aproximadamente 0.2) que también se estableció con relativa lentitud (8).

En otro experimento de la misma serie, los autores incubaron sus preparaciones en presencia de iodoacetato para inhibir la glucólisis, lo cual ocurre a nivel de la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (9) y después de un tiempo aplicaron el cianuro, encontrando que con gran rapidez desaparecía el fosfato de creatina y el ATP, acidificándose también de inmediato el medio, con un descenso de pH de aproximadamente 0.3. Evidentemente, estos experimentos demostraron que puede ocurrir la acidificación mientras está inactivada la glucólisis, lo cual soporta fuertemente la idea de que la formación de lactato no es el proceso responsable de la acidez que se coproduce en el metabolismo anaerobio.

En otra serie de experimentos, a pesar de que no se llevó a cabo en tejido muscular sino en un parásito conocido como *Trypanosoma brucei*, se obtuvieron datos muy ilustrativos sobre el fenómeno que se analiza. *Trypanosoma brucei* es un microorganismo que cuando se halla en su fase de desarrollo en la sangre, depende energéticamente únicamente de la glucólisis anaerobia pues no cuenta en ese estadio con ciclo de Krebs (metabolismo aeróbico). Sin embargo, de manera muy peculiar, *T. brucei* no produce lactato deshidrogenasa, que es la enzima que cataliza la transformación de piruvato a lactato, por lo cual su glucólisis termina invariablemente en piruvato y no en lactato. Para mantener su integridad y viabilidad, *T. brucei* está dotado de un transportador membranar que le permite translocar piruvato a la sangre, actuando dicho transportador como simportador de hidrogeniones.

El trabajo reporta experimentos realizados con inhibidores del transportador membranar de piruvato/H⁺ en *T. brucei* que se desarrollaba en la sangre de ratas de laboratorio. Se documentó un incremento intracelular muy notable de piruvato así como la acidificación intracelular del parásito, descendiendo el pH de 7.2 a 6.8, lo cual indicó que la glucosa continuaba entrando y se seguía catabolizando cuando el piruvato ya no podía salir por efecto del bloqueo del transportador (10). La acidosis intracelular generada en las condiciones señaladas evidencia que al activarse la vía glucolítica se producen también hidrogeniones cuyo origen es imposible atribuir a la producción de ácido láctico. El solo diseño natural del modelo de *T. brucei*, carente de la enzima necesaria para la formación de lactato, no es congruente con la reiterada idea de que el ácido láctico es responsable de la acidez asociada con la glucólisis anaerobia.

La información presentada anteriormente puede ser muy sugerente de que es la hidrólisis del ATP la fuente de la acidez que acompaña a la glucólisis anaerobia. Como se mencionó anteriormente, se trata de una propuesta hecha hace varias décadas, pero ha sido ratificada muy recientemente. Quienes consideran que la hidrólisis del ATP es la fuente de los hidrogeniones producidos durante la anaerobiosis forman dos corrientes de pensamiento, una consistente en que la producción de lactato no se halla vinculada a la producción de hidrogeniones, de manera que no existe una relación estequiométrica entre el lactato y los hidrogeniones producidos (7) y otra en la que se sostiene que sí existe una asociación cuantitativa entre el lactato y los hidrogeniones producidos, de manera que cada vez que se forma un lactato aparecerá un hidrogenión (11). En el primer caso, los proponentes sostienen que no se forma ácido láctico y que la acidez no depende de que se forme lactato (7), mientras que en el segundo caso se sostiene la idea de que sí es ácido láctico lo que se forma y que desde luego la acidez depende de la formación de lactato (11).

Otro abordaje del problema

De manera muy interesante, otros investigadores han cuestionado fuertemente el pretender encontrar el origen de los hidrogeniones en un proceso particular como puede ser la hidrólisis del ATP. Sostienen que el *estatus* ácido básico se halla determinado por el principio de la electroneutralidad. Así, en todo momento la diferencia de cargas positivas y negativas en cualquier líquido orgánico debe ser cero y las diferencias de carga que resultan de los procesos bioquímicos se compensan por los principales iones débiles que participan en los sistemas de

amortiguamiento, y los iones H^+ y OH^- derivados a partir del agua. De esta manera, la producción de lactato (anión fuerte) y de intermediarios glucolíticos (aniones débiles) asociada con la contracción muscular en condiciones anaeróbicas, produce un incremento de cargas negativas, mientras que la hidrólisis de la fosfocreatina obra en sentido contrario pues al ocurrir dicha reacción se pierden las cargas negativas de la fosfocreatina. Los cambios netos de cargas obligan a ajustes en la relación de concentraciones de H^+ y OH^- , de manera tal que instantáneamente se logre el equilibrio en los tres sistemas que involucran iones débiles: pCO_2 /bicarbonato, ácidos débiles totales/aniones de ácidos débiles y H^+/OH^- (12).

Evidentemente se trata de un sistema complejo en el que no puede saberse el origen preciso de los hidrogeniones que en un momento dado compensan las cargas negativas del lactato y de los metabolitos glucolíticos propios de la condición anaerobia, pero se reconoce la participación del agua como fuente de dichos hidrogeniones.

Conclusión

A pesar de las evidencias en contra de que es la producción de ácido láctico por la lactato deshidrogenasa lo que explica la acidificación del medio cuando ocurre la glucólisis anaerobia, sigue enseñándose dicho concepto sin ningún tipo de aclaración.

Existen dos corrientes de pensamiento que sostienen que la fuente de los hidrogeniones en la glucólisis anaerobia es la hidrólisis del ATP. Una de ellas considera que la producción de los hidrogeniones se halla vinculada a la producción de lactato y por lo tanto consideran que lo que se forma es ácido láctico ya que cada vez que

se forma un lactato también se forma un hidrogenión por la hidrólisis de una molécula de ATP (11), mientras que la otra considera que los hidrogeniones se producen de manera independiente del lactato, sin que por lo tanto exista equimolecularidad entre el lactato y los hidrogeniones producidos, sosteniendo por lo tanto que no es ácido láctico lo que se produce (7).

Una tercera corriente de pensamiento se basa en el principio general de la electroneutralidad y propone que la acidificación obedece a la compensación que ocurre de manera espontánea cuando se generan alteraciones en la proporción de cargas positivas y negativas, por ejemplo cuando se hiperproduce lactato. Implícito en la propuesta se halla el hecho de que cualquier fuente de hidrogeniones, como puede ser en efecto la hidrólisis del ATP, está sujeta a los mecanismos de amortiguamiento que se hallan diseñados precisamente para evitar que ocurran cambios significativos de la concentración de hidrogeniones en los líquidos intra y extracelular. Desde este punto de vista no puede esperarse que los hidrogeniones producidos por la hidrólisis del ATP ni por ningún otro proceso se queden íntegramente en el medio celular sin que su concentración sea modificada por los sistemas amortiguadores. Con este abordaje, la acidez asociada con la anaerobiosis es el resultado de la interacción de varios sistemas involucrados, como son los ácidos débiles y sus bases conjugadas, y de manera relevante la disociación del agua, para compensar las diferencias de carga que genera el proceso glucolítico en condiciones anaeróbicas, en particular por las cargas negativas que aparecen al producirse cantidades altas de lactato y de los metabolitos glucolíticos.

REFERENCIAS

1. Silberberg MS (2003). Chemistry, the molecular nature of matter and change, 3rd ed., McGraw-Hill, Boston, Mass., USA p. 777.
2. Stryer L (1995) Biochemistry, 4th ed., W. H. Freeman and Co., New York, N. Y., USA, p. 483.
3. Gevers W (1977). Generation of protons by metabolic processes in heart cells. *J Mol Cell Cardiol* 9: 867-874
4. Zilva JF (1978). The origin of the acidosis in hyperlactataemia. *Ann Clin Biochem* 15 (1): 40-43.
5. Iles RA y Poole-Wilson PA (1990) Ischaemia, hypoxia and reperfusion. En: *The Metabolic and Molecular Basis of Acquired Disease*. Editores: Cohen RD, Lewis B, Alberti KG y Denman AM. Baillière Tindall, London, U. K. p.322-341.
6. Lopaschuk GD y Stanley WC (1997) Manipulation of energy metabolism in the heart. *Science and Medicine* 4: 42-51.
7. Robgers RA, Ghiasvand F y Parker D (2004) Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 287: R502-R516.
8. Smith GL, Donoso P, Bauer CJ y Eisner DA (1993) Relationship between intracellular pH and metabolite concentrations during metabolic inhibition in isolated ferret heart. *J Physiol* 472: 11-22.
9. Brumback RA (1980). Iodoacetate inhibition of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase as a model of human myophosphorylase deficiency (McArdle's disease) and phosphofructokinase deficiency (Tarui's disease). *J Neurol Sci* 48 (3): 383-398.
10. Wiemer EAC, Michels PAM y Oppendoes FR (1995) The inhibition of pyruvate transport across the plasma membrane of the bloodstream form of *Trypanosoma brucei* and its metabolic implications. *Biochem J* 312: 479-484.
11. Böning D, Beneke R y Maassen N (2005) Lactic acid still remains the real cause of exercise-induced metabolic acidosis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 289: R902-R903.
12. Lindinger MI, Kowalchuk JM y Heigenhauser GJF (2005). Applying physicochemical principles to skeletal muscle acid-base status. *Am. J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 289: R891-R894.

LA FLUORESCENCIA DE LA CLOROFILA *a* COMO HERRAMIENTA EN LA INVESTIGACIÓN DE EFECTOS TÓXICOS EN EL APARATO FOTOSINTÉTICO DE PLANTAS Y ALGAS*

Sergio González Moreno, Hugo Perales Vela, Martha O Salcedo Alvarez

RESUMEN

El análisis de la emisión de fluorescencia de la clorofila *a* del fotosistema II del aparato fotosintético de plantas terrestres, acuáticas y algas hace posible caracterizar los efectos y modos de acción de diferentes tipos de estrés ambiental (temperatura, sequía, alta intensidad luminosa, salinidad, inundación) y diversos contaminantes del agua como metales pesados, herbicidas, detergentes, así como de una variedad de compuestos contaminantes del aire. También puede ser de gran ayuda en la identificación de contaminantes tóxicos y sus fuentes. Este método de análisis puede ser aplicable a las plantas o algas intactas *in situ* e *in vivo*, o a cloroplastos aislados, siendo además, no invasivo o destructivo, rápido y sensible.

PALABRAS CLAVE: fotosíntesis, fluorescencia de clorofila *a*, plantas, algas, efectos tóxicos.

ABSTRACT

Chlorophyll *a* fluorescence emission analysis of photosystem II from the photosynthetic apparatus of terrestrial and aquatic plants and algae makes possible to characterize the effects and modes of action of different kinds of environmental stress (temperature, drought, high irradiance, salinity, flooding), several water pollutants such as heavy metals, herbicides, detergents, and a variety of air pollutants, as well. It may be of great help for identification of toxic pollutants and their sources. In addition, this method of analysis can be applied to plants and algae *in situ*, and *in vivo* or to isolated chloroplasts, is not invasive neither destructive and it is a fast and sensitive technique.

KEY WORDS: photosynthesis, chlorophyll *a* fluorescence, plants, algae, toxic effects.

INTRODUCCIÓN

La fotosíntesis es el proceso por el cual las plantas, algas, cianobacterias y bacterias fotosintéticas convierten la energía luminosa en energía química en forma de enlaces químicos y es la base de todas las cadenas alimenticias de las que depende la vida animal y humana.

El proceso fotosintético se inicia cuando la luz es absorbida por los pigmentos fotosintéticos (básicamente clorofila *a*, *b* y carotenoides) de los complejos antena de la membrana fotosintética. Parte de la energía ab-

sorbida es transferida como energía de excitación y atrapada por el centro de reacción, en donde es utilizada para hacer trabajo químicamente útil, y la otra parte es disipada principalmente como calor y en menor grado re-emitida como energía luminosa de menor energía (fluorescencia). Esta distribución de la energía en los tres procesos ocurre simultáneamente, de tal forma que el incremento en la eficiencia de uno de ellos, resultará en la disminución de los otros dos. Por lo tanto, a través de la medición del rendimiento de la fluorescencia de la clorofila

se puede obtener información de la eficiencia fotoquímica y la disipación térmica de la energía absorbida (1). En los complejos antena, la energía de un fotón absorbido se suma a la de la molécula de pigmento que la absorbe, quedando ésta en un estado excitado inestable, con marcada tendencia a ceder este exceso de energía denominado energía de excitación o excitón y volver al estado fundamental de energía mínima. La desexcitación se efectúa por tres rutas: a) pérdida de energía como calor; b) como transferencia de energía a otras moléculas suficiente-

*Recibido: 29 de febrero de 2008 Aceptado: 11 de noviembre de 2008

Laboratorio de Bioquímica, Unidad de Morfofisiología, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, Tlalneapantla, Estado de México, México. CP 54090. Correo E: sergon_9@yahoo.com

mente cercanas y c) liberación de energía radiante como fotón visible de menor energía (fluorescencia) que el que causó la formación del estado excitado. La energía transferida entre las clorofilas de las antenas y canalizada a las clorofilas del centro de reacción hace que, en éstas, un electrón pase del estado basal a un estado excitado. Cuando la molécula de clorofila excitada pierde un electrón, se produce la separación de carga eléctrica dentro del centro de reacción (quedando la clorofila a oxidada ($\text{Chl } a^+$) y una molécula de feofitina aceptora del electrón reducida (Pheo)). Esto se conoce como evento fotoquímico primario y utiliza alrededor del 97% de los fotones absorbidos, mientras que el 2.5 % son transformados a calor y 0.5% son re-emitidos como luz fluorescente roja. Si no ocurre la separación de carga, 95-97% de la energía luminosa absorbida se libera como calor y 2.5-5.0% como fluorescencia. En las plantas, las moléculas de clorofila a asociadas a los fotosistemas I y II (PSI, PSII) son las responsables de la emisión de la fluorescencia, sin embargo, a la temperatura de ambiente (25°C), la contribución del PSI a la emisión total es mínima en comparación con el PSII. Las características cinéticas de la reacción de la fluorescencia emitida son determinadas por la intensidad luminosa de excitación, la concentración de pigmentos que absorben la luz, la transferencia de la energía de excitación, la naturaleza y orientación de los pigmentos fluorescentes, el estado redox de aceptores y donadores del PSII, el apilamiento de los tilacoides y la translocación de protones, entre otros. En condiciones naturales, *in vivo*, la emisión de fluorescencia de los sistemas fotosintéticos cambia continuamente siguiendo su adaptación al ambiente cambiante. Diversos factores físicos o químicos de estrés ambiental como temperaturas altas, heladas,

sequía, cambios en la intensidad luminosa, salinidad, deficiencias nutricionales, presencia de metales pesados, detergentes, herbicidas y ozono entre otros, afectan la función del PSII de manera directa o indirecta lo cual modifica la emisión de la fluorescencia. Por ello, los cambios en la emisión de la fluorescencia, pueden utilizarse para revelar mecanismos de respuesta, cuantificación de respuestas al estrés e identificación de ciertos contaminantes y sus fuentes (1-4).

Las primeras evidencias de la relación entre las reacciones primarias de la fotosíntesis y la emisión de fluorescencia de la clorofila del PSII se tuvieron al exponer a la luz, hojas adaptadas a la oscuridad, donde se obtuvo un registro de emisión de fluorescencia roja. La curva de inducción de fluorescencia (conocida como "cinética de Kautsky", en honor a quien la describió) mostró una fase de incremento rápido de fluorescencia en el primer segundo de iluminación seguida de una fase lenta de declive de fluorescencia durante varios minutos. La "fase rápida", O-I-D-P (cada una designada secuencialmente por las letras O, J, I, P), también llamada O-J-I-P, está relacionada principalmente con eventos primarios del PSII. Por otro lado, la "fase lenta" compuesta de las fases o inflexiones P-S-M-T, está asociada principalmente con interacciones entre procesos de las membranas de los tilacoides y procesos metabólicos en el estroma del cloroplasto, relacionados con un incremento en la asimilación de CO_2 (Fig. 1). El aumento de fluorescencia en la "fase rápida" O-P se ha explicado como una consecuencia de la reducción (ganancia de electrones) del total de aceptores de electrones en el PSII, particularmente la quinona A (Q_A) y la plastoquinona (PQ). Una vez que el PSII absorbe luz y Q_A ha aceptado un electrón, no es capaz de aceptar otro hasta que el primero ha pasa-

do al siguiente acarreador de electrones, la quinona B (Q_B). Durante este periodo, el centro de reacción está "cerrado" porque está totalmente reducido. En cualquier punto en el tiempo, la presencia de una proporción de centros de reacción reducidos "cerrados", conduce a una disminución en la eficiencia fotoquímica, con un correspondiente incremento en la fluorescencia. Después de esto, a partir de la fase P y hasta la fase T, el nivel de fluorescencia empieza a decaer en el transcurso de minutos. Aunque muchos factores pueden modificar la fluorescencia de las membranas tilacoides, son principalmente dos los que hacen la mayor contribución al nivel de fluorescencia durante la fases de decaimiento P-T; el primero es el estado redox de Q_A y el segundo, la magnitud del gradiente de potencial electroquímico protónico (ΔpH) que existe a través de las membranas tilacoides. Los cambios en el estado redox de Q_A ocurren como resultado de cambios en la velocidad de transporte de electrones no cíclico y el incremento en el consumo de NADPH por el metabolismo del carbono lo que resulta en un incremento en la velocidad de transporte de electrones y oxidación de Q_A . El decaimiento de fluorescencia debido a la oxidación de Q_A se ha denominado "decaimiento fotoquímico" qP , mientras que, el debido a cambios en la magnitud del gradiente de potencial electroquímico protónico transtilacoidal se denomina "decaimiento no-fotoquímico" (qNP). La magnitud del coeficiente de decaimiento no fotoquímico (qNP) refleja además de los cambios en el gradiente de pH, inactivación de centros de reacción (fotoinhibición), cambios conformacionales dentro de los complejos de pigmentos en la membrana tilacoide, desconexión de complejos cosechadores de luz móviles del PSII, formación de zeaxantina, disminu-

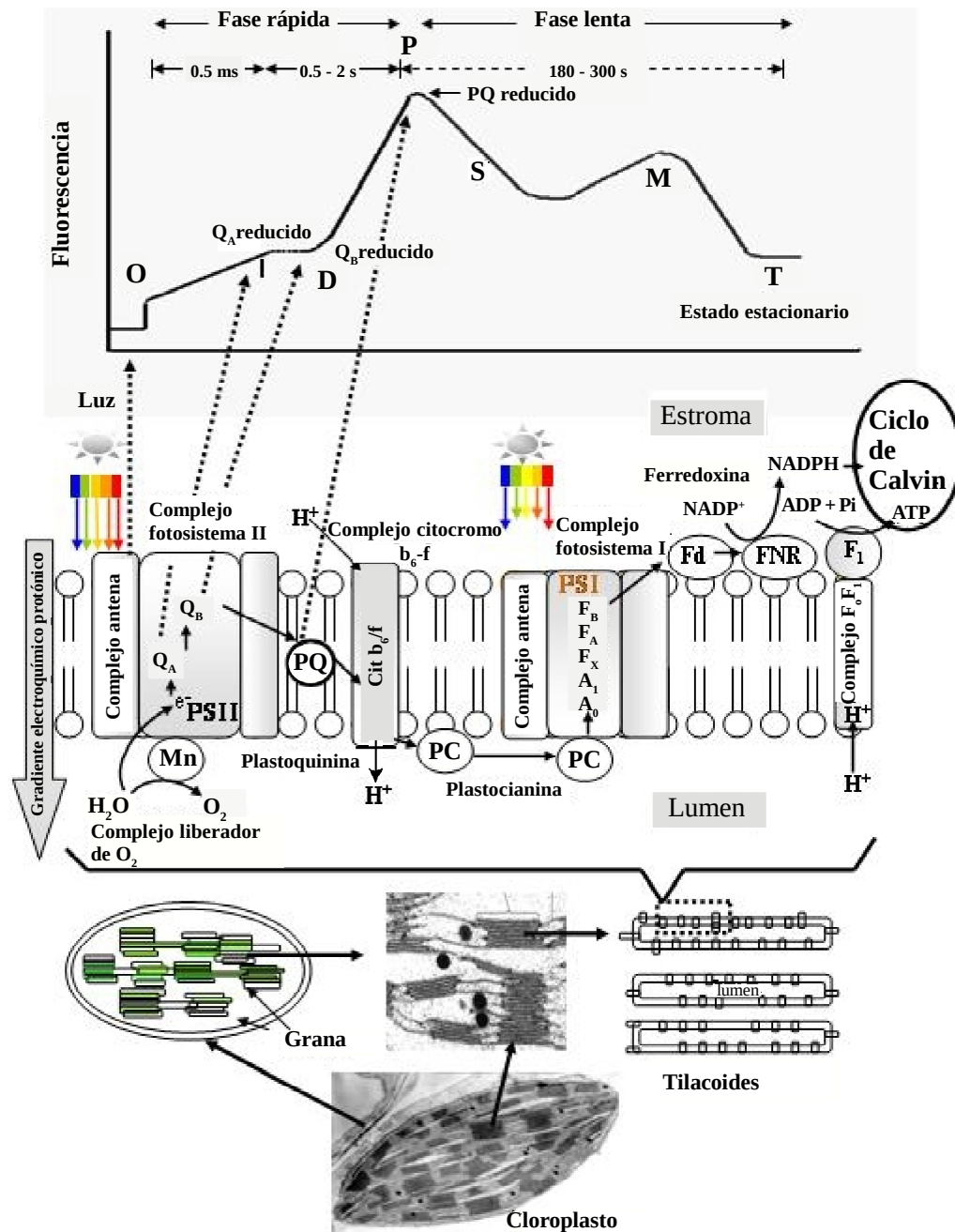


Figura 1. Curva de inducción de fluorescencia de clorofila *a* (fases rápida y lenta,OIDPSMT) y su correspondencia con las reacciones de la cadena transportadora de electrones. La primera señal registrada se denominó O (Origin) y su intensidad usualmente se expresa como F₀ (fluorescencia inicial o basal). En este punto, Q_A está en su mayoría oxidada. La fase I (inflexión) corresponde a la reducción de Q_A. La fase D (declive) es indicativa de la oxidación de Q_A en la transferencia de electrones de Q_A a Q_B. El nivel de fluorescencia P corresponde a la reducción de PQ y su intensidad normalmente se denomina F_m (fluorescencia máxima). La fase S (Estado estacionario) de decaimiento de fluorescencia está relacionada con la re-oxidación de Q_A, la energización de la membrana tilacoide debida a translocación de protones (ΔpH) y a transición de estado1 → 2. Las fases M (máxima) y T (terminal) corresponden a la disminución de qP e incremento de qN (ΔpH) y están relacionadas con la captación de CO₂, velocidad de liberación de O₂ y la disponibilidad de NADP⁺, ADP y fosfato.

ción del rendimiento cuántico efectivo de la fotoquímica del PSII (Φ_{PSII}) y la velocidad de transporte de electrones fotosintético (ETR). Los cambios en estos dos procesos

se completan en 15-20 minutos (variable entre las especies) en los que se alcanza un estado estacionario (1, 5). Desde la descripción inicial de los procesos mencionados a la fecha, el co-

nocimiento de la relación entre reacciones primarias de la fotosíntesis y la fluorescencia de la clorofila *a* se ha incrementado notablemente gracias a los avances en la instrumentación

para medir la fluorescencia con tiempos de resolución altos (10 μ s) y a la capacidad de adquisición de datos misma que se ha mejorado en varios órdenes de magnitud.

Relación entre la emisión de fluorescencia registrada y los eventos fotoquímicos primarios

Cuando una muestra preacondicionada a la oscuridad es iluminada, la fluorescencia de la clorofila *a* se incrementa rápidamente. Este incremento es un reflejo de la reducción "cierre" de los centros de reacción del PSII y por lo tanto provee información de la actividad fotoquímica del PSII y la reducción "llenado" de la poza de plastoquinona. La cinética de la fluorescencia de la clorofila presenta cuatro inflexiones nombradas OJIP cuando se grafica el tiempo en logaritmo (Fig. 2):

(1) O, es el valor mínimo de la fluorescencia (F_0). Aparece alrededor de los 50 μ s y en ese momento todos los centros de reacción están oxidados "abiertos", $qP = 1$ y $qNP = 0$.

(2) J, se desarrolla a los 2 ms ($F_J = F_{2ms}$) y está relacionada con la reducción parcial de la Q_A .

(3) I, se desarrolla a los 20 ms ($F_I = F_{20ms}$) y está relacionada con la reducción parcial de Q_A y Q_B .

(4) P, es el valor máximo de la fluorescencia (F_m). El tiempo en el que se alcanza depende del protocolo experimental aunque en condiciones fisiológicas normales se alcanza en alrededor de 1s. En este momento todos los centros de reacción están reducidos "cerrados", $qP = 0$ y $qNP = 1$. P es el punto de fluorescencia máxima debido a que el flujo de electrones desde PQ a través del complejo b/f es el paso más lento de la cadena. Por otra parte, el tiempo para llegar desde las fases I (o J) a P no es más corto debido a que hay mucha más PQ que Q_A .

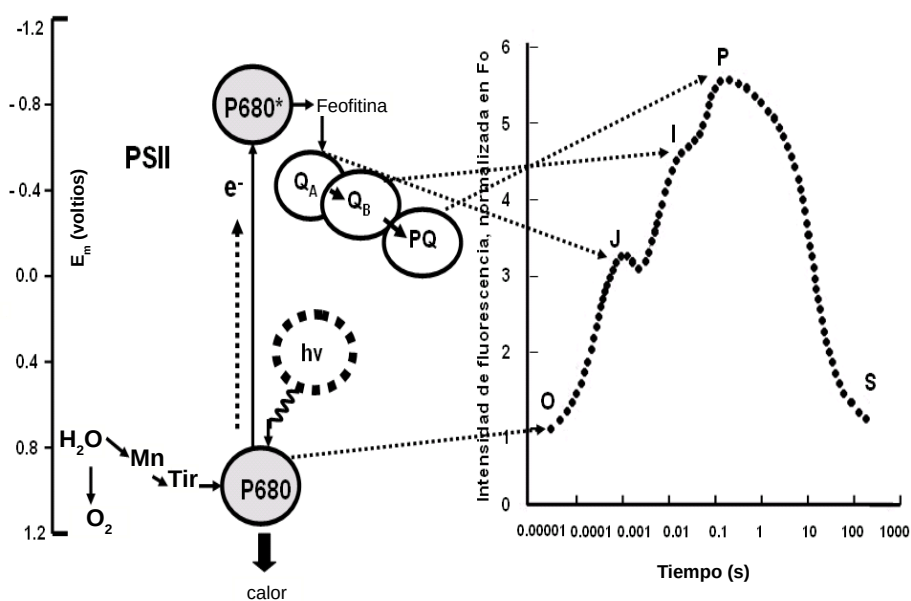


Figura 2. Cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila *a* del fotosistema II en la fase rápida y su relación con las reacciones en la cadena transportadora de electrones. O, es el valor mínimo de la fluorescencia (F_0). Aparece alrededor de los 50 μ s y en ese momento todos los centros de reacción están oxidados "abiertos". J, se desarrolla a los 2 ms ($F_J = F_{2ms}$) y está relacionada con la reducción parcial de la Q_A . I, se desarrolla a los 20 ms ($F_I = F_{20ms}$) y está relacionada con la reducción parcial de Q_A y Q_B . P, es el valor máximo de la fluorescencia (F_m). El tiempo en el que se alcanza depende del protocolo experimental. En este momento todos los centros de reacción están reducidos "cerrados".

La interpretación de estas señales experimentales con los cambios en los componentes moleculares de las reacciones se ha establecido sobre un modelo que supone que los complejos cosechadores de luz (LHC-PSII) donde se encuentran los pigmentos antena y los centros de reacción (RC-PSII) son sistemas individuales. El modelo permite un análisis simple del flujo de energía a través del PSII (2, 6). El flujo de energía puede ser entendido por varios parámetros: Flujo absorbido (flujo de fotones absorbido por pigmentos de la antena (ABS), flujo atrapado (flujo de energía transferida al centro de reacción que será convertida en energía redox reduciendo Q_A a Q_A^- (TR), flujo de transporte electrónico (al oxidarse Q_A^- se inicia el transporte de electrones que conduce a la fijación de CO_2) (ET) y el flujo de disipación de energía no atra-

pada como calor o transferida a otros sistemas no fluorescentes (DI) (Fig. 3). Como puede observarse en el modelo, la eficiencia cuántica máxima de la reacción fotoquímica primaria TRo/ABS = ϕ_{p_0} , la eficiencia con la que un excitón atrapado puede mover un electrón mas allá de Q_A^- en la cadena transportadora de electrones ETo/TRo = ψ_0 , y la probabilidad de que un fotón absorbido mueva un electrón en la cadena transportadora de electrones ETo/ABS = ϕ_{E_0} están directamente relacionados a los tres flujos como cocientes de 2 de ellos. ϕ_{E_0} se deriva de la multiplicación de ϕ_{p_0} y ψ_0 . El producto cuántico máximo de la fotoquímica primaria (ϕ_{p_0}) es también denominado como fase luminosa, debido a que su valor puede ser modificado por la intensidad lumínica. Por otro lado, la eficiencia con la que un excitón atrapado mueva un electrón

después de Q_A^- en la cadena transportadora de electrones (ψ_o), es denominada fase térmica, ya que ésta no es modificada por la intensidad lumínica, pero sí por la temperatura. Lo anterior ha sido de mucho valor, ya que en condiciones de estrés se puede definir de manera específica la fase que está afectando la condición a la cual ha sido expuesto el organismo (Fig. 5 y tabla anexa 5B).

El análisis cuantitativo de la cinética de la reacción de producción de la fluorescencia, llamada "prueba OJIP", puede usarse para explicar el flujo de energía a través del PSII como el flujo de energía por área de emisión (CS), y también por centro de reacción (RC). La relación entre los datos experimentales y la formulación planteada, estuvo basada en la consideración y los siguientes experimentos (2): en tiempo cero, (después de un periodo de oscuridad), todos los

centros de reacción están oxidados "abiertos", la velocidad de atrapamiento TRo/CR que conduce a la reducción de Q_A a Q_A^- , debe ser máxima; al bloquear la reoxidación de Q_A^- con DCMU 3-(3,4-Diclorofenil)-dimetilurea (inhibidor del paso de electrones de Q_A a Q_B), TRo/RC estará dada por la pendiente inicial normalizada (Mo_{DCMU}) de la curva de inducción de fluorescencia (entre 50 y 300 μ s) en la fluorescencia variable máxima $F_v = F_m - F_o$. Si no se bloquea la reoxidación de Q_A^- , el valor normalizado de la pendiente inicial, Mo , indica la velocidad neta de cierre de los centros de reacción RCs, donde el proceso de atrapamiento incrementa el número de centros reducidos y el transporte de electrones lo disminuye ($Mo = TRo/RC - ET_o/RC$). Mo en las muestras tratadas con DCMU puede simularse por la amplificación de Mo medida en muestras sin DCMU por

un factor recíproco a V_j ($V_j = (F_{2ms} - F_o)/(F_m - F_o)$) y entonces, $TRo/CR = Mo_{DCMU} = Mo/V_j$. A partir de estas ecuaciones se definieron otras que permiten el análisis cuantitativo de los flujos específicos en relación al área de emisión (utilizando los valores de F_o y F_m) o al centro de reacción (utilizando los valores de Mo y V_j y de las eficiencias cuánticas o relaciones de flujo) (Tabla 1).

Medición de la emisión de fluorescencia de la clorofila del fotosistema II

En la actualidad se utilizan principalmente 2 técnicas fluorométricas, una que mide la fluorescencia directa, inducida por excitación continua y otra, la fluorescencia modulada, inducida por excitación modulada. En el primer caso, la hoja se adapta previamente a la oscuridad por 10-30 minutos, posteriormente se expone a luz de 650 nm con una intensidad de alrededor de 3000 μ moles. $m^{-2}.s^{-1}$ durante 1-10 segundos y simultáneamente se miden y almacenan los valores de la fluorescencia emitida únicamente por la clorofila del PSII, desde los 10 μ s hasta los segundos programados. Así se obtiene la cinética de emisión de fluorescencia, y los valores de algunos parámetros como F_o , F_m , F_v , F_v/F_m (eficiencia fotoquímica del PSII) y t_{Fmax} (tiempo (ms) en el que se alcanza la fluorescencia máxima); a partir de los valores registrados, se calculan otros parámetros que expresan el funcionamiento de diversos componentes del PSII (2).

Para medir la fluorescencia modulada se utiliza un fluorómetro que consiste básicamente de 4 fuentes de luz cualitativa y cuantitativamente diferentes: a) luz roja modulada de baja intensidad (2 μ moles. $m^{-2}.s^{-1}$, 583 nm), b) pulsos de luz actínica de alta intensidad (5-20,000 μ moles. $m^{-2}.s^{-1}$), c) luz actínica blanca continua de 300-600 μ moles. $m^{-2}.s^{-1}$, d) luz rojo lejano

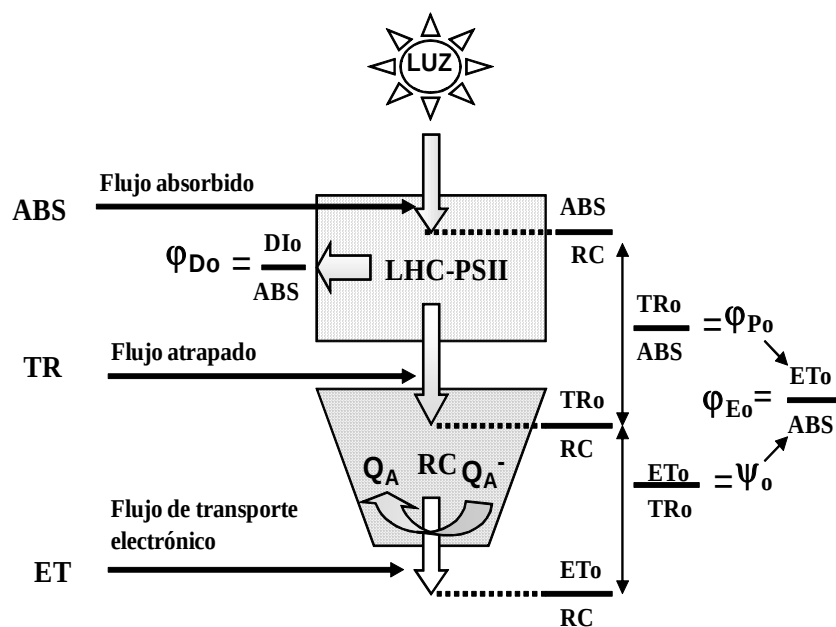


Figura 3. Modelo simplificado de los flujos de energía en el aparato fotosintético. ABS se refiere a el flujo de fotones absorbido por los pigmentos de la antena (Chl^*). Parte de esta energía de excitación se disipa como calor y en menor grado como emisión de fluorescencia y la otra parte es canalizada como flujo atrapado TR al centro de reacción y es convertido a energía redox reduciendo al aceptor de electrones Q_A a Q_A^- el cual se oxida creando transporte de electrones ET. La figura derecha ilustra la derivación de: rendimiento cuántico máximo de la fotoquímica primaria (Φ_{Po}), la eficiencia con la que un excitón atrapado puede mover un electrón más allá de Q_A en la cadena transportadora de electrones (Φ_{Eo}) y la probabilidad de que un fotón absorvido mueva un electrón en la cadena transportadora de electrones (Ψ_o); a partir de las relaciones de flujo de energía específicos.

TABLA 1
Formulación del análisis JIP usando los datos de la fase rápida de emisión de fluorescencia.

Parámetros Técnicos		
Fluorescencia a 50 μ s	Fo	
Fluorescencia máxima	Fm	
Fluorescencia variable a 2ms	Fv	= Fm-Fo
Pendiente desde el origen de la fluorescencia	Mo	= (F300 μ s-Fo)/(Fm-Fo)
Fluorescencia variable a 2ms	Vj	= (F2ms-Fo)/(Fm-Fo)
Flujos específicos expresados por centros de reacción (RC)		
Absorción por RC	ABS/RC	= (Mo/Vj)/(1-Fo/Fm)
Atrapamiento a tiempo 0 por RC	TRo/RC	= Mo/Vj = (ABS/RC) ϕ_{p0}
Disipación a tiempo 0 por RC	DIo/RC	= (ABS/RC) - (TRo/RC)
Transporte electrónico a tiempo 0 por RC	ETo/RC	= (TRo/RC) ψ_o
Flujos específicos expresados por área (cross section) (CS)		
Absorción por CS	ABS/CS	= Fo o Fm
Atrapamiento a tiempo 0 por CS	TRo/CS	= (TRo/ABS)/(ABS/CS)
Disipación a tiempo 0 por CS	DIo/CS	= (ABS/CS) - (TRo/CS)
Transporte electrónico a tiempo 0 por CS	ETo/CS	= (ETo/RC)(RC/ABS)
Densidad de RC por CS	RC/CS	= (ABS/CS)(RC/ABS)
Eficiencias cuánticas (o relaciones de flujo)		
Producto cuántico máximo de la fotoquímica primaria	ϕ_{p0}	= TRo/ABS = (Fm-Fo)/(Fm - (1-Fo/Fm) = Fv/Fm
Producto cuántico máximo de disminución de excitación fotoquímica	ϕ_{D0}	= DIo/ABS = 1- ϕ_{p0} = Fo/Fm
Eficiencia con la que un excitón atrapado puede mover un electrón después de QA ⁻	ψ_o	= ETo/TRo = 1-Vj
Probabilidad de un excitón absorbido mueva un electrón después de QA ⁻	ϕ_{E0}	= $\phi_{p0} \cdot \psi_o$ = (TRo/ABS)/(ETo/TRo) = ETo/ABS = (1-Fo/Fm)(1-Vj)
Índices vitales		
Índice de funcionamiento	PI _{ABS}	= [RC/ABS][$\phi_{p0}/(1-\phi_{p0})$][$\psi_o/1-\psi_o$]
Fuerza impulsora de la fotosíntesis	DF _{ABS}	= Log [PI _{ABS}]

(μ moles. $m^{-2}.s^{-1}$, de 735 nm) y un detector de fluorescencia que registra solamente la fluorescencia emitida en la frecuencia y la fase de luz modulada. La hoja se expone a la luz modulada de baja intensidad para determinar Fo, luego se superpone un pulso de luz de alta intensidad para determinar Fm, y enseguida, también superpuesta a la luz modulada, se aplica luz actínica blanca continua durante algunos minutos para llevar al es-

tado estacionario; nuevamente, se aplica un pulso de luz saturante para determinar Fm' y al final se aplica luz rojo lejano para promover la reoxidación de plastoquinona y determinar Fo'. (Fig. 5D). A partir de estos parámetros se calculan los valores de rendimiento fotoquímico operacional del PSII (Φ_{PSII}), decaimiento fotoquímico (qP), decaimiento no fotoquímico (qNP) y transporte de electrones (ETR) (1, 5). Ambos mé-

todos pueden dar información no idéntica totalmente, pero tampoco contradictoria. En la actualidad los fluorómetros de mayor uso a nivel mundial son los de las marcas alemana (Walz) e inglesa (Hansatech). La figura 4 muestra 2 de los equipos Hansatech para la medición de fluorescencia directa o fluorescencia modulada en plantas y algas.

Información que se obtiene mediante el análisis de emisión de fluorescencia de la clorofila a del fotosistema II

De acuerdo al análisis de la fase rápida OJIP y las ecuaciones planteadas para la cuantificación del comportamiento del PSII (3, 5), se puede tener información sobre: a) los flujos de energía específicos para absorción (ABS), atrapamiento, (TRo), transporte de electrones (ETo) y disipación (DIo) por centro de reacción o por área activa de la hoja; b) eficiencia cuántica o relación de flujos como el rendimiento cuántico de la fotoquímica primaria (ϕ_{p0}), la eficiencia con la cual un excitón atrapado puede mover un electrón en la cadena transportadora de electrones mas allá de QA⁻ (ψ_o), y el rendimiento cuántico de transporte de electrones (ϕ_{E0}); c) la cantidad de centros de reacción activos por área de emisión; índice de funcionamiento (PI) el cual combina criterios estructurales y funcionales del PSII; d) el número de centros de reacción de reapertura muy lenta o centros de reacción que no unen Q_B; e) estimación del número de centros liberadores de oxígeno (OEC); f) el número de veces que Q_A se reduce desde el tiempo 0 to al tiempo en el que se alcanza al máximo de fluorescencia t_{Fmax} (N); g) la fracción promedio de centros de reacción abiertos durante el tiempo necesario para completar la reducción de todos los centros de reacción (Tabla 1). En cuanto al análisis de la fase lenta de



Fluorómetro de fluorescencia continua
Handy PEA Hansatech

Fluorómetro de fluorescencia modu-
lada FMS2 Hansatech

Figura 4. Fluorómetros Hansatech para el registro de fluorescencia directa o modulada en plantas y algas.

la cinética de inducción de fluorescencia (7) se puede obtener información importante en relación a los procesos fotoquímicos y no fotoquímicos asociados con la conversión de energía en los cloroplastos. Varios parámetros de la fluorescencia de la clorofila *a* proporcionan información sobre el proceso de fotosíntesis en las plantas o algas bajo diferentes condiciones externas o internas. Los valores numéricos de los parámetros de fluorescencia reflejan la interacción de las plantas con su medio, el metabolismo de cloroplastos, los mecanismos regulatorios en la membrana tilacoide, y la transferencia de energía de excitación.

Medición de la emisión de fluorescencia de la clorofila *a* en algas

Para tener información de la actividad fotosintética de un alga a través de la medición de la emisión de la fluorescencia de la clorofila *a*, es necesario el poder distinguir entre la li-

beración de la energía absorbida por procesos fotoquímicos (qP) y los No-fotoquímicos (qNP). La manera usual de hacerlo, es a través del "apagado" de una de las dos vías, de tal manera que se puede medir el producto de la otra. Generalmente se "apaga" la vía fotoquímica a través de la técnica de dos pulsos, la cual permite que momentáneamente la contribución de los procesos fotoquímicos sean igual a cero. Por medio de esta técnica se puede calcular el decaimiento fotoquímico (qP), el cual representa la proporción de la energía de excitación atrapada por los centros de reacción abiertos y que ha sido usada para el transporte electrónico.

$$qP = (F_m' - F_s) / (F_m' - F_o')$$

Otro término relacionado con el anterior es el rendimiento fotoquímico operacional del PSII (Φ_{PSII}). Éste mide la proporción de energía absorbida que está siendo usada para impulsar

el proceso fotoquímico. De modo que, es una medida de la eficiencia del transporte electrónico lineal.

$$\Phi_{PSII} = (F_m' - F_s) / F_m'$$

El parámetro anterior puede ser usado para calcular la tasa de transporte electrónico (ETR).

$$ETR = ((F_m' - F_s) / F_m') \times 0.84 \times 0.5 \times PAR \text{ (m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{)}$$

Donde el valor de 0.84 en la fórmula, equivale a la proporción de luz que es absorbida por el alga y el de 0.5 a la proporción de luz que es transferida al sistema a cada uno de los fotosistemas (PSII y PSI) y la radiación fotosintéticamente activa (PAR) utilizada en $\mu\text{moles.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (1)

Por otro lado, el decaimiento no fotoquímico (qNP o NPQ) representa la proporción de energía disipada térmicamente y puede ser calculado de dos maneras:

$$qNP = F_m - F_m' / F_m - F_o'$$

$$NPQ = F_m - F_m' / F_m'$$

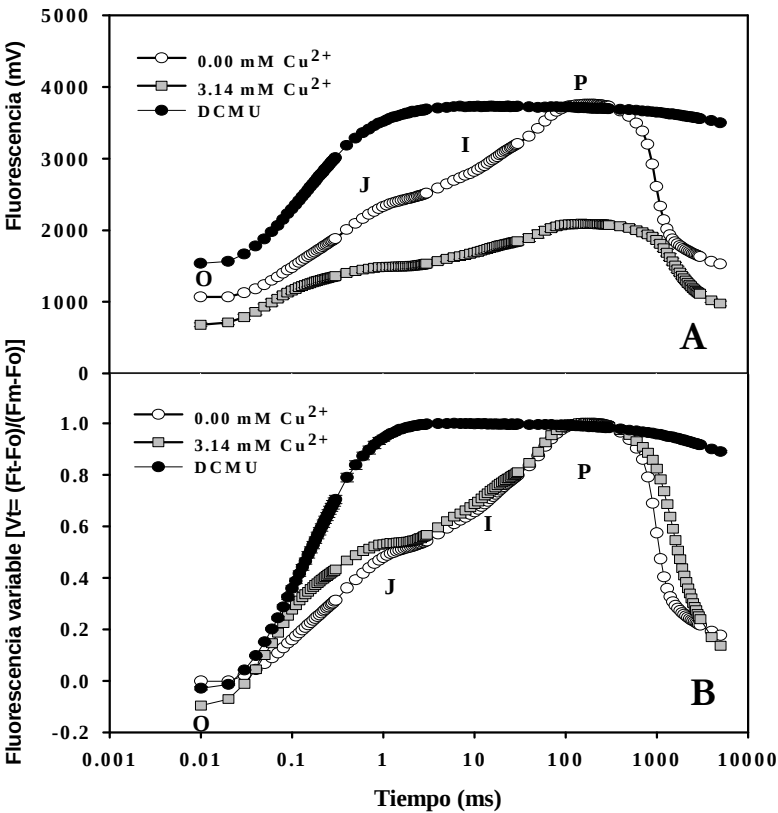
El término qNP o NPQ refleja la influencia de procesos no fotoquímicos en la emisión de fluorescencia de la clorofila durante la transición de una muestra del estado adaptado a la oscuridad al estado adaptado a la luz, como cambios en el gradiente de pH transtilacoidal, inactivación de centros de reacción (fotoinhibición) y cambios conformacionales dentro de los complejos de pigmentos en la membrana tilacoide, desconexión de complejos cosechadores de luz móviles del PSII y formación de zeaxantina. El parámetro más usado en la emisión de la fluorescencia es el rendimiento cuántico máximo para la fotoquímica primaria cuando todos los centros de reacción del PSII están oxidados o "abiertos" (F_v/F_m) (9).

$$Fv/Fm = (Fm-Fo/Fm)$$

Es importante señalar que mientras Φ_{PSII} está relacionado con la eficiencia cuántica alcanzada por el PSII, qP y Fv/Fm proveen información sobre los procesos que pueden modificar esta eficiencia. Por lo tanto, una disminución en qP está dada por la reducción o "cierre" de los centros de reacción, como resultado de una saturación lumínica o de una inhibición del transporte electrónico. Por otro, lado una disminución en Fv/Fm está dada por un aumento en qNP (1).

Aplicaciones del análisis de la emisión de fluorescencia de la clorofila a

Por el análisis de la cinética de emisión de fluorescencia directa y los parámetros registrados y calculados, podemos saber si determinado factor de estrés tiene efecto en los eventos fotoquímicos del PSII o en eventos no dependientes de luz. Cuando los eventos fotoquímicos son los afectados por un factor de estrés de manera directa o indirecta, podemos conocer si la alteración se produjo en alguno de los siguientes componentes o reacciones: a) el complejo antena (LHC), por ejemplo, reduciéndose la captación de energía o incrementándose la disipación de la energía captada; b) la transferencia de energía de la antena al centro de reacción (RC), la cual podría ser reducida o disipada al momento de transferirse por desconexión con el centro de reacción; c) el centro de reacción, que no "atrape" la energía transferida y ésta sea disipada; d) la velocidad de reducción de Q_A o alteración de los niveles de Q_A , la velocidad de reducción de Q_B o la alteración de los niveles de Q_B ; e) el bloqueo de la transferencia de electrones entre Q_A y Q_B ; f) disminución de la velocidad de reducción de PQ; g) el complejo liberador de oxígeno, disminuyendo su actividad y como con-



	Control	DCMU	Cu ²⁺
Producto cuántico			
Producto cuántico máximo de la fotoquímica primaria (ϕ_{po})	0.710	0.495	0.616
Eficiencia con la que un excitón atrapado puede mover un electrón después de Q_A (ψ_o)	0.521	0.042	0.517
Probabilidad de que un fotón absorbido mueva un electrón después de Q_A^- (ϕ_{Eo})	0.369	0.020	0.318

Figura 5. (A) Efecto del DCMU [3-(3,4-Diclorofenil)-dimetilurea] y del cobre (Cu²⁺) en la emisión del fluorescencia de la clorofila a del fotosistema II y (B) los rendimientos cuánticos operacionales de *Scenedesmus incrasatulus*. Los datos mostrados fueron obtenidos en el laboratorio para ilustrar este caso.

secuencia limitando el aporte de electrones al centro de reacción del PSII. Por el análisis de la fluorescencia modulada podemos conocer si determinado factor ambiental tuvo efectos en la fotoquímica del PSII y en la disipación no fotoquímica, como calor y el gradiente de pH. Estas técnicas tienen aplicación en las prueba de pro-

ductividad agrícola en función de tratamientos con fertilizantes, hormonas, pesticidas y herbicidas; en ensayos de selección de cultivos tolerantes a diferentes factores de estrés (incluyendo cultivos transgénicos); en experimentación sobre respuesta a cambios de intensidad y calidad de luz, temperatura etc., y a la combinación de

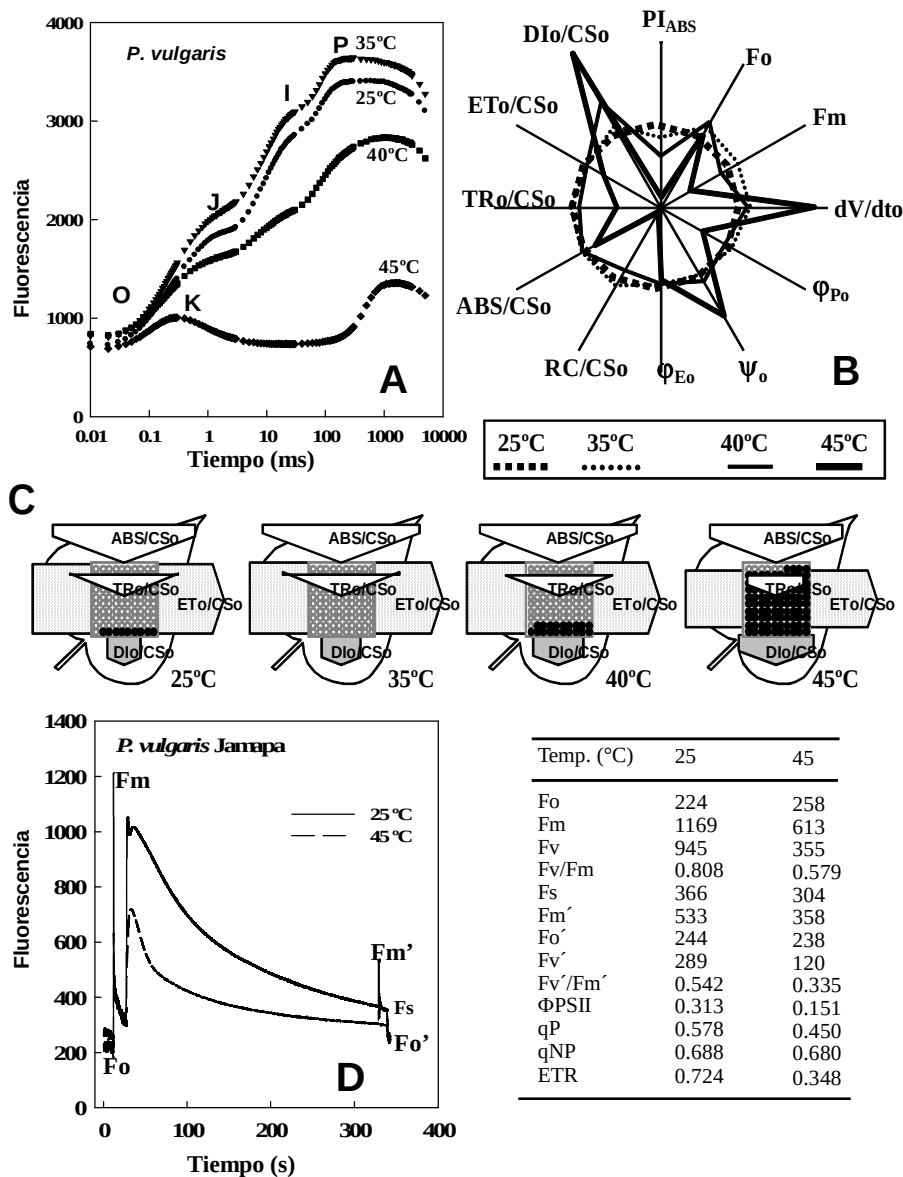


Figura 6. (A) Efecto de la temperatura en la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila *a* del PSII de plantas de *P. vulgaris* (obtenida con el fluorómetro Handy PEA, Hansatech); (B) "Gráfica de araña" que muestra los efectos de la temperatura en las actividades aparentes ABS/CS, TR_o/CS, ET_o/CS, DI_o/CS; eficiencias cuánticas ϕ_{Po} , ψ_o , ϕ_{Eo} e índice de vitalidad PI_{ABS} en plantas de *P. vulgaris*. Los datos presentados fueron calculados usando las ecuaciones indicadas en la tabla 1 y los valores de fluorescencia registrados con el fluorómetro Handy PEA, mediante el programa "Biolyzer", diseñado específicamente para éste propósito por el grupo de Strasser en la Universidad de Ginebra). Los valores fueron normalizados sobre el control (25°C). (C) Modelo de hoja obtenido con el programa Biolyzer, que ilustra los efectos de la temperatura en los flujos de energía (por área de absorción de la hoja, (CS)) del PSII de *P. vulgaris*. Las flechas indican los flujos de absorción de luz (ABS), energía de excitación atrapada (TR_o), energía de disipación (DI_o), y transporte de electrones (ET_o) mas allá de Q_A^- . El ancho de cada flecha representa la intensidad de flujo de energía respectivo. Cada círculo blanco indica centro de reacción activo y cada círculo negro representa centro de reacción inactivo. (D) Efecto de la temperatura en la actividad del fotosistema II de *P. vulgaris* medida por emisión de fluorescencia modulada. (Los registros se obtuvieron utilizando un medidor de fluorescencia modulada FMS2, Hansatech). Todos los datos presentados fueron obtenidos por los autores para ilustrar este caso específico.

factores de estreses físicos y químicos; en la optimización del establecimiento de condiciones de luz, temperatura, humedad en invernaderos, así como en los estudios de productos comercializados como flores y frutos en relación a condiciones de almacenamiento y factores que retardan o aceleran la maduración o senescencia. Las mencionadas técnicas del estudio de la emisión de la fluorescencia de la clorofila *a* también tienen aplicación en el estudio de la conducta de ecosistemas ante cambios globales, en la ecodinámica de sistemas hortícolas y forestales y en la utilización de algas y plantas como biorremediadores de aguas y suelos contaminados con metales pesados.

Algunos ejemplos de la utilización del análisis JIP en el estudio de los efectos de varios tipos de estrés en la fotosíntesis de plantas y microalgas se presentan en las figuras 5-6

La figura 5A muestra el efecto del DCMU y del cobre (Cu^{2+}) en la cinética de emisión de fluorescencia del alga verde *Scenedesmus incrassatulus*. El DCMU es un conocido herbicida cuyo efecto es bloquear el flujo de electrones entre Q_A y Q_B , lo que se puede evidenciar en la gráfica como un incremento rápido de la fluorescencia hasta alcanzar un valor máximo (F_m) en la fase J, la cual está relacionada con la reducción de Q_A^- . Por otro lado, se puede observar en la misma figura que la exposición durante 168 h a 3.14 μM de Cu^{2+} disminuye los valores de fluorescencia máxima y mínima. La figura 5B muestra los valores de fluorescencia graficados como fluorescencia relativa en el tiempo [$V_t = (F_t - F_o)/(F_m - F_o)$]. Esta expresión experimental permite visualizar de manera dinámica la reducción de $Q_A \rightarrow Q_A^-$. Se puede observar en esta figura que la incubación con DCMU o Cu^{2+} incrementa la velocidad inicial de la fluorescencia (M_o), lo que se explica

como un incremento en la velocidad de reducción de los centros de reacción del PSII. Esto se explica debido a que en caso de la inhibición completa del PSII con DCMU, los centros de reacción son reducidos con la entrada de un sólo electrón. El efecto del cobre podría ser similar, es decir inhibiendo el paso de electrones entre Q_A y Q_B , sin embargo, es posible que algunos centros de reacción no puedan llevar a cabo la separación de cargas, lo cual aumentaría la velocidad del cierre de total de los centros de reacción. Por otro lado, el valor de fluorescencia después de la fase "J" es el máximo para el caso de la incubación con DCMU, sin embargo, comparado con el control, la exposición a cobre no modifica la dinámica de reducción de Q_A entre las fases de J a P. Cuando se analiza la cinética de la figura 4A y la tabla anexa (4B) con base en el modelo de la prueba OJIP para obtener los productos o eficiencias cuánticas, se puede observar que la eficiencia con la cual se mueven los electrones a través del PSII (ϕ_{E0}) disminuye en un 94% y 14% por efecto del DCMU y Cu^{2+} respectivamente comparado con el control. Esta disminución, en caso del DCMU, se debe principalmente a la disminución del flujo de electrones después de Q_A (ψ_o), fase térmica y en menor proporción a la fase lumínica (ϕ_{p0}). Por otro lado, en el caso del Cu^{2+} a concentraciones no letales para este organismo (0.2 ppm), el efecto aparentemente está más relacionado con la salida de electrones del centro de reacción del PSII, es decir a la fase lumínica (ϕ_{p0}), ya que el movimiento de electrones después de Q_A (ψ_o),

prácticamente no es afectado.

La figura 6 muestra los efectos de la temperatura en la cinética de emisión de fluorescencia y en algunos parámetros de fluorescencia de plantas de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) obtenidos por la medición de fluorescencia directa y fluorescencia modulada respectivamente. En la figura 6A se observa que el incremento de la temperatura hasta 40°C disminuye gradualmente la intensidad de fluorescencia mientras que a 45 °C se produce una disminución abrupta y la cinética de emisión de fluorescencia muestra una fase (K) entre Fo y J (alrededor de los 300 μ s), lo que refleja una limitación de la donación de electrones por el complejo liberador de oxígeno y cambios en la arquitectura de la antena del PSII con la consecuente alteración de la distribución de energía. Después del incremento rápido inicial de fluorescencia debido a la reducción de Q_A , la reoxidación de Q_A^- continúa, transfiriéndose los electrones a Q_B , pero debido a la carencia de electrones procedentes del complejo liberador de oxígeno, la intensidad de la fluorescencia decrece formándose el pico K. La figura 6B muestra el efecto de la temperatura en diversos parámetros de fluorescencia entre los cuales destacan el fuerte decremento en el rendimiento cuántico máximo para la fotoquímica del PSII (ϕ_{p0}), y el índice de funcionamiento PI_{ABS} . La figura 6C muestra el efecto de la temperatura en los flujos de energía por área de emisión, en hojas de frijol común, visualizado en un modelo de hoja en donde la magnitud del cambio está ajustada al ancho de la flecha corres-

pondiente y los centros de reacción activos están indicados por círculos claros y los inactivos por círculos oscuros. Se observan: a) disminución en el transporte de electrones debido a la inactivación de los centros de reacción (causado por una inactivación del complejo liberador de oxígeno); b) disminución en la densidad de los centros de reacción activos; c) incremento en la disipación de energía por área de emisión y d) disminución en la energía absorbida por área de emisión. La figura 6D ilustra el efecto de la temperatura alta en el fotosistema II, registrado mediante la medición de fluorescencia modulada. Destaca la disminución en los valores del rendimiento cuántico máximo para la fotoquímica primaria (Fv/Fm), en el rendimiento fotoquímico operacional del PSII (Φ_{PSII}), en el decaimiento fotoquímico de la fluorescencia (qP) y en la tasa de transporte electrónico (ETR). Estos resultados son congruentes con los observados por el análisis basado en la medición directa de fluorescencia.

En resumen, ya que la fotosíntesis es una función esencial en los organismos fotoautotróficos, resulta evidente que la evaluación de su funcionamiento es de la mayor importancia en un gran número de situaciones de interés práctico. La determinación cuantitativa de la emisión de la fluorescencia de la clorofila *a*, su análisis y la obtención de los parámetros correspondientes, constituyen una forma precisa, confiable y rápida, de obtener información molecular que tiene una expresión fisiológica y que puede tener múltiples aplicaciones prácticas.

REFERENCIAS

1. Maxwell K, Johnson GN (2000) Chlorophyll fluorescence. A practical guide. *J Exp Bot* 51: 659-668.
2. Strasser RJ, Srivastava A, Tsimilli-Michael M (2000) The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. En: *Probing Photosynthesis, Mechanism, Regulation, Adaptation*. Editores: Yunus M, Pathre U, Mohanty P. Taylor & Francis. pp 445-483.
3. Brack W, Frank H (1998) Chlorophyll *a* fluorescence: A tool for the investigation of toxic effects in the photosynthetic apparatus. *Ecotoxicol Environ Saf.* 40:34-41.
4. Appenroth KJ, Stöckel J, Srivastava A, Strasser RJ (2001) Multiple effects of chromate on the photosynthetic apparatus of *Spirodela polyrhiza* as probed by OJIP chlorophyll *a* fluorescence measurements. *Environ Pollut* 115:49-64.
5. Bolhàr-Nordenkampf HR, Öquist G (1993) Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. En: *Photosynthesis and Production in a Changing Environment: A field and Laboratory Manual*. Editores: Hall DO, Scurlock JMO, Bolhàr-Nordenkampf HR, Leegood RC, Long SP. Chapman & Hall pp 193-206
6. Strasser BJ, Strasser RJ (1995) Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: En *Photosynthesis: From Light to Biosphere*, Vol 5: Editor: Mathis P Kluwer Academic pp 977-980.
7. Roháček K, Barták M (1999) Technique of the modulated chlorophyll fluorescence: basic concepts, useful parameters, and some applications. *Photosynthetica* 37:339-363.
8. Müller P, Li Xiao-Ping, Niyogi, KK (2001) Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. *Plant Physiol* 125:1558-1566.
9. Krause GH, Weis E (1991) Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 42:313-349.

LA ARQUITECTURA NUCLEAR Y SU DINÁMICA*

Héctor Rincón Arano y Félix Recillas Targa

RESUMEN

El núcleo de una célula constituye el hábitat del genoma eucariote el cual se encuentra estructurado en cromatina. Los avances en el uso de moléculas marcadas con compuestos fluorescentes aunados al progreso en la microscopia de fluorescencia han demostrado que la organización espacial del genoma y de los organelos sub-nucleares es mucho más compleja y dinámica de lo imaginado anteriormente. Además de los procesos de transcripción y procesamiento post-transcripcional se sabe que el genoma adopta una distribución topológica determinada dentro del núcleo. Que los cromosomas ocupan territorios sub-nucleares bien definidos y que se presentan procesos de re-localización de regiones del genoma en sitios específicos del núcleo favoreciendo contactos inter- e intra-cromosomales. Esta nueva visión del núcleo renueva el interés por su estudio y en la actualidad debe considerarse como un eslabón más dentro de la regulación genética y epigenética.

PALABRAS CLAVE: núcleo, cromatina, estructuras sub-nucleares, territorios, dinámica nuclear, re-localización, asas cromatínicas.

INTRODUCCIÓN

Durante la década pasada pocos descubrimientos tuvieron tal relevancia como la noticia de la secuenciación completa de la molécula portadora de la información genética del ser humano, conocida como ADN. Dicha noticia, además de permitir un mayor y mejor entendimiento del genoma, fue mundialmente divulgada como la solución a la mayoría de los defectos genéticos que se generan en los seres humanos. Sin embargo, y sin restarle su importancia práctica, esta información nos muestra solo la entrada a un

complejo mundo de procesos que regulan la información génica contenida en el núcleo celular. En otras palabras, tenemos los planos de cómo el genoma está organizado, pero, apenas estamos empezando a entenderlos y a utilizar la información en ellos contenida.

El núcleo celular y su organización fueron larga e injustamente ignorados, y es hasta años recientes, que se le ha dado importancia al papel fundamental que ésta juega en procesos celulares tan importantes como la división celular, el procesamiento de los men-

ABSTRACT

Cell nucleus represents the natural environment for the eukaryotic genome. The progress on fluorescent reagents for molecular labeling and fluorescence microscopy revealed the nucleus and the genome spatial compartmentalization demonstrating that the cell nucleus is much more complex than previously anticipated. It is well established that transcription and splicing are nuclear processes but today the nucleus needs to be seen as a more dynamic organelle where chromosomes are confined to specific territories and with dynamic re-localization of chromatin fibers inducing inter-chromosomal and intra-chromosomal interactions. This modern view of the eukaryotic cell nucleus illustrates its contribution at multiple levels to genetic and epigenetic regulation.

KEY WORDS: cell nucleus, chromatin, nuclear sub-organelle, territories, nuclear dynamics, re-location, chromatin loops.

sajeros así como su íntima participación en la regulación de la expresión génica. Por lo tanto, el núcleo celular representa, no sólo un sub-organelo celular, sino que además contribuye de manera dinámica en la homeostasis celular y no debe ser considerado únicamente como un contenedor de la molécula de ADN, es decir, del genoma celular.

El núcleo posee una organización definida en espacio y tiempo, es decir, es específica de cada tejido, así como de cada etapa de diferenciación. Dicha organización puede y debe de

*Recibido: 9 de septiembre de 2008 Aceptado: 9 diciembre de 2008

Instituto de Fisiología Celular, Departamento de Genética Molecular, Lab 122 NTE. Circuito Exterior S/N. Ciudad Universitaria. Universidad Nacional Autónoma de México. Coyoacán. México D.F. Apartado Postal 70-242 México, D.F. 04510. Tel: (52 55) 56 22 56 74 FAX: (52 55) 56 22 56 30. Correo E: frecilla@ifc.unam.mx (<http://www.ifsiol.unam.mx/gmdepto.html>)

ser mantenida después de procesos drásticos de re-estructuración, tales como la división celular. Al mismo tiempo, el núcleo es extremadamente dinámico en términos de los componentes que lo constituyen, así como en la regulación de procesos complejos como la transcripción génica, tráfico de proteínas reguladoras, etc. Por lo anterior, la dinámica y organización del núcleo eucarionte se ha convertido en un pilar esencial para el entendimiento de la regulación tanto a nivel genético como epigenético, entendiendo esto último como todos los cambios sobre la expresión génica que no involucran cambios en la secuencia del ADN, como por ejemplo silenciamiento de genes por metilación del ADN.

La visión del núcleo celular ha evolucionado de manera considerable gracias a los avances técnicos en dos áreas específicas: la microscopía de fluorescencia confocal y el desarrollo de estrategias experimentales que permiten el marcaje de moléculas con base en compuestos fluorescentes con amplios espectros de emisión. El progreso en estas áreas del conocimiento ha provocado un cambio drástico en nuestro concepto asociado a la dinámica del núcleo celular eucarionte.

En este artículo pretendemos mostrar una visión actualizada del núcleo celular partiendo de un orden lógico de eventos y componentes, con la finalidad de motivar al lector a renovar y ampliar su conocimiento acerca de este organelo. Describiremos las estructuras y compartimientos sub-nucleares e introduciremos las evidencias que llevan a concluir que el núcleo es un organelo celular altamente dinámico; con el fin de abordar aspectos más interesantes y novedosos asociados con procesos de re-localización al interior del núcleo. Desde esta perspectiva resulta indudable que las funciones del núcleo son imprescindibles para la vida de una célula y que de-

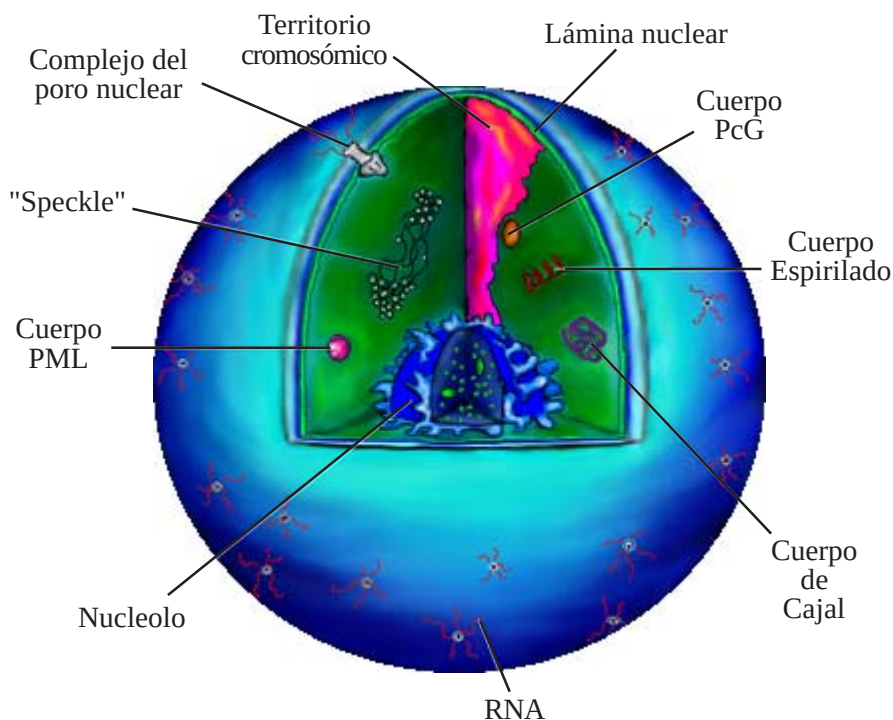


Figura 1. El núcleo celular. Dentro de los componentes del núcleo encontramos al nucleolo, cuerpos de Cajal, cuerpo del grupo Polycomb (PcG), lamina nuclear, «speckle» o cuerpos espiralados, el poro nuclear y cuerpo PML. Asimismo, se remarca la región probable que abarca un cromosoma en interfase (territorio nuclear).

fectos, tanto estructurales como funcionales, pueden contribuir o, incluso, ser responsables de diversas enfermedades.

Estructuras sub-nucleares

Una de las características más evidentes del núcleo consiste en su heterogeneidad en cuanto a sub-estructuras o compartimientos, los cuales varían dependiendo del linaje celular. Desde las eruditas observaciones de Santiago Ramón y Cajal fue clara la presencia de estructuras de diversos tamaños y formas al interior del núcleo, además de la molécula del ADN (en forma de cromosomas condensados). La microscopía óptica y más recientemente la microscopía electrónica permitió una descripción más precisa de dichos componentes nucleares. A pesar de ello, dicha caracterización es incompleta, dado que ha sido difícil atribuir funciones claras a las estructuras sub-nucleares identificadas. El

cuerpo nuclear más nítido y evidente es el nucléolo, sitio altamente especializado donde se localizan y se expresan los genes ribosomales (transcritos por la ARN polimerasa III), así como su posterior procesamiento e inicio del ensamblaje de los ribosomas (Fig. 1). En algunos tipos celulares se pueden apreciar regularmente más de un nucleolo, hecho que se encuentra asociado a los altos requerimientos de ribosomas para la síntesis de proteínas dependiendo de la estirpe celular. Además del nucleolo, existen toda una serie de cuerpos nucleares más pequeños entre los que se encuentran los Cuerpos de Cajal, los cuerpos PML (del inglés: "promyelocytic leukemia") y los "speckles" o cuerpos espiralados entre otros (1). Hasta el momento, la función de estos cuerpos se mantiene en controversia y en algunos casos es un completo misterio. Dentro de las estructuras más estudiadas se encuentran

los Cuerpos de Cajal, los cuales son considerados como sub-compartmentos nucleares donde se concentran y acumulan componentes necesarios para el procesamiento de los ARN pre-mensajeros. En varios estudios, ensayos de inmunofluorescencia muestran la presencia de componentes proteicos tales como diferentes factores de transcripción asociados a los Cuerpos de Cajal. Por otro lado, los "speckles" también conocidos como cuerpos espiralados parecen tener características similares a la de los Cuerpos de Cajal, siendo estos, estructuras dinámicas que se mueven al interior del núcleo en busca de sitios activos de transcripción y procesamiento. Finalmente, los cuerpos PML son los más enigmáticos y su número (de 2 a 10 cuerpos) se incrementa dramáticamente en células neoplásicas (hasta 50), considerando a estas estructuras como un marcador de células tumorales. A pesar de lo anterior, la función exacta de dichas estructuras no ha podido ser dilucidada y siguen siendo un misterio para la biología contemporánea. Aún queda mucho por entender en relación a la contribución de estos cuerpos dentro de la dinámica nuclear, no sabemos si representan sitios de almacenamiento globales de moléculas reguladoras o si participan de manera general y activa en procesos tales como el procesamiento de mensajeros o de la transcripción.

El concepto de territorios sub-nucleares

Brevemente, debemos recordar que la molécula de ADN se encuentra asociada a proteínas conocidas como histonas, a dicha asociación se le denomina nucleosoma, y esta organización representa el nivel primario de compactación del genoma, permitiendo contener de 2 a 4 metros de ADN dentro del núcleo (Fig. 2). A dicha asociación se le conoce en su conjunto como cromatina. La cromatina se

encuentra organizada en dominios cromosómicos bien definidos, compuestos por gradientes de heterocromatina y eucromatina (Fig. 2). La heterocromatina representa las zonas del genoma altamente compactas, con una baja o casi nula presencia de genes. Su contraparte, la eucromatina, se asocia a regiones de

cromatina menos compactas, en donde se encuentra la mayoría de los genes transcripcionalmente activos (conocidos como dominios transcripcionalmente activos). Desde una perspectiva citológica, y a través del uso de la microscopia de fluorescencia, la heterocromatina se ha encontrado predominantemente asocia-

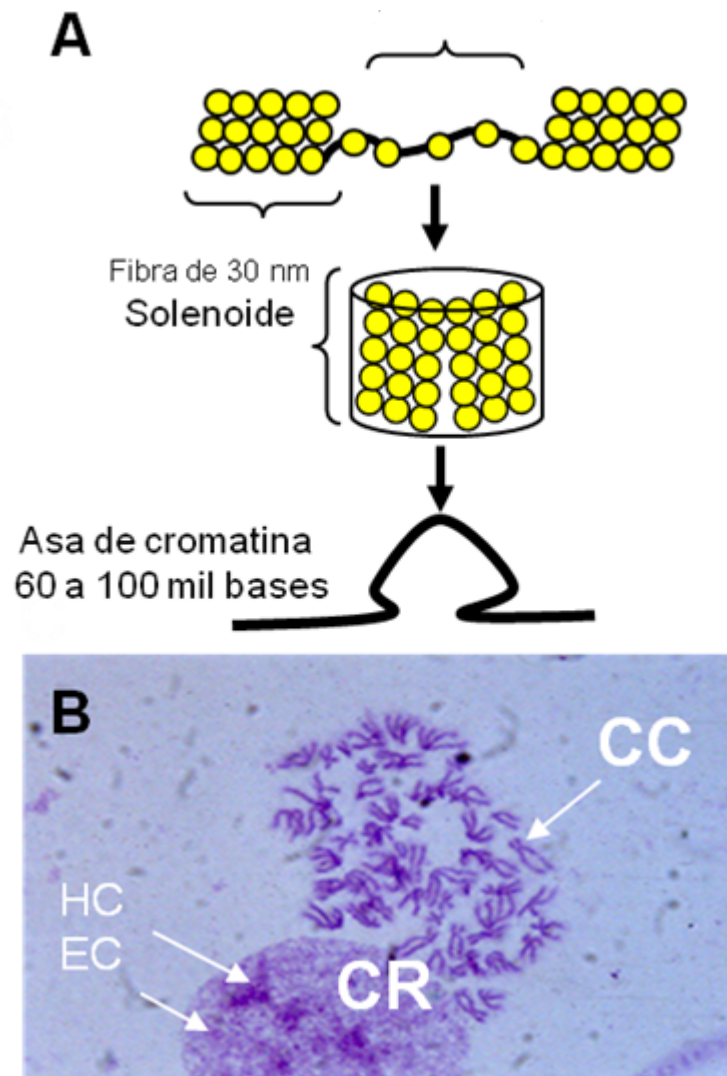


Figura 2. La estructura de la cromatina y sus distintos niveles de compactación. A.- Los círculos representan los nucleosomas, compuestos de ocho histonas enrollando a la cadena de ADN. Seis nucleosomas, con la ayuda de la histona H1, forman el solenoide o fibra de 30 nm. Esta fibra a su vez forma estructuras con un nivel de compactación superior, conocidas como asas, las cuales abarcan grandes áreas del genoma (de 60 a 100 mil bases). La organización de dichas asas -mediante procesos aún desconocidos- da lugar los cromosomas mitóticos. B.- Tinción de Giemsa para identificar el ADN de dos núcleos uno con el genoma en interfase o que no está en división (I) y otro con el ADN condensado a nivel de cromosomas mitóticos (CC), usualmente observados durante la división celular. En el núcleo en interfase se puede observar regiones de heterocromatina (HC) y de eucromatina (EC).

da a la periferia nuclear y al nucléolo, mientras que la eucromatina tiene una localización más central al interior del núcleo.

Contrario a lo que inicialmente se pensaba, los cromosomas no se distribuyen de manera aleatoria al interior del núcleo. Con el advenimiento y desarrollo de múltiples métodos de fluorescencia que permiten teñir cromosomas completos de manera individual, ha sido posible confirmar que los cromosomas ocupan espacios relativamente bien definidos, lo cual llevó a los investigadores a proponer el concepto de territorios cromosómicos (Fig. 3). Con esto en mente, Cremer y colaboradores propusieron que la organización del genoma en territorios cromosómicos y los espacios comprendidos entre ellos, conocidos como compartimientos inter-cromosómicos, tienen una posible relación con la actividad transcripcional de zonas definidas de cada cromosoma (2, 3). Diferentes evidencias experimentales sugieren que en la periferia de los territorios cromosómicos la cromatina se encuentra en un estado más relajado y por lo tanto apta para que los genes localizados en esas zonas sean transcritos. Dichas regiones pueden incluso ser alejadas del territorio formando asas y exponiendo genes o grupos de genes hacia los espacios inter-cromosómicos (Fig. 4A). El alejamiento de una región del genoma con respecto al territorio favorecería la interacción de la maquinaria transcripcional (factores transcripcionales y la polimerasa de ARN) así como la subsiguiente deposición de mensajeros de ARN en vías o canales (espacios inter-cromosómicos) que facilitarían su exportación al citoplasma a través de los poros nucleares. Lo anterior sugiere una coordinación entre los mecanismos de transcripción génica y de exportación de las moléculas mensajeras que serán traducidos en el citoplas-

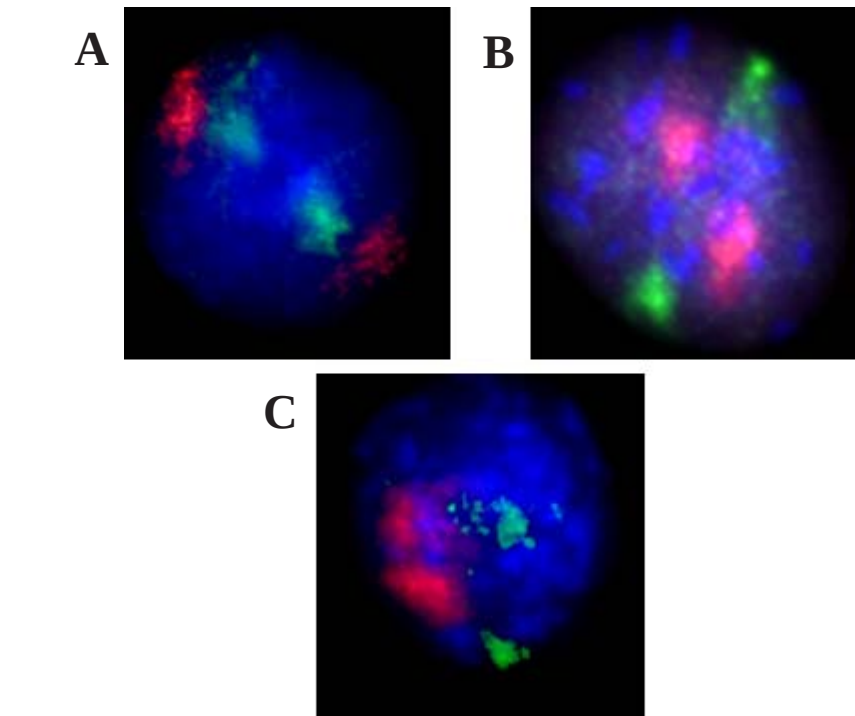


Figura 3. Microscopia fluorescente para el análisis de territorios cromosómicos. A, B.- Territorio nuclear ocupado por los cromosomas 11 (rojo) y 2 (verde), contra-teñidos con DAPI (azul) para localizar el ADN en núcleos de eritroblastos (A) y eritrocitos maduros (B) de ratón. C.- Territorio nuclear ocupado por los cromosomas 14 (rojo) y 12 (verde) en eritroblastos de ratón, en azul se define el resto del genoma con una tinción con DAPI. Aumento 100X. Fotografías proporcionadas amablemente por Steven Kosak and Mark Groudine, Fred Hutchinson Cancer Research Center, SA, USA.

ma (Fig. 4A). Además el modelo prevee que dichos canales servirían como vías de tránsito para componentes nucleares como los Cuerpos de Cajal y los cuerpos espiralados ("speckles"). Por otro lado y hacia el interior de los territorios, la cromatina se encuentra en un estado mucho más compacto y, en consecuencia, con una baja actividad transcripcional.

Otro modelo propone que dentro del territorio que ocupa un cromosoma existen una serie de canales organizados por la propia cromatina que lo atraviesan totalmente (Fig. 4B). Esta propuesta contempla la posibilidad de que los dominios génicos activos se organicen hacia la luz de dichos canales. Así, ellos permitirían el libre flujo de la maquinaria transcripcional a los diferentes dominios génicos localiza-

dos en las paredes de los mismos. Asimismo, la exportación de los ARN mensajeros se vería facilitada para su subsecuentemente utilización en el citoplasma. Por otro lado, los dominios silenciados y la heterocromatina constitutiva parecerían alejarse de dichos canales, agrupándose en centros de convergencia de heterocromatina. Cabe mencionar que este modelo no es excluyente del modelo inicialmente descrito.

Resulta pertinente recordar que hasta este momento, la gran mayoría de las imágenes a partir de las cuales se proponen los modelos de organización se han generado en dos dimensiones (Fig. 4). De lo anterior surge la necesidad de construir y modelar imágenes tri-dimensionales de núcleos para alcanzar una mejor comprensión de la arquitectura más

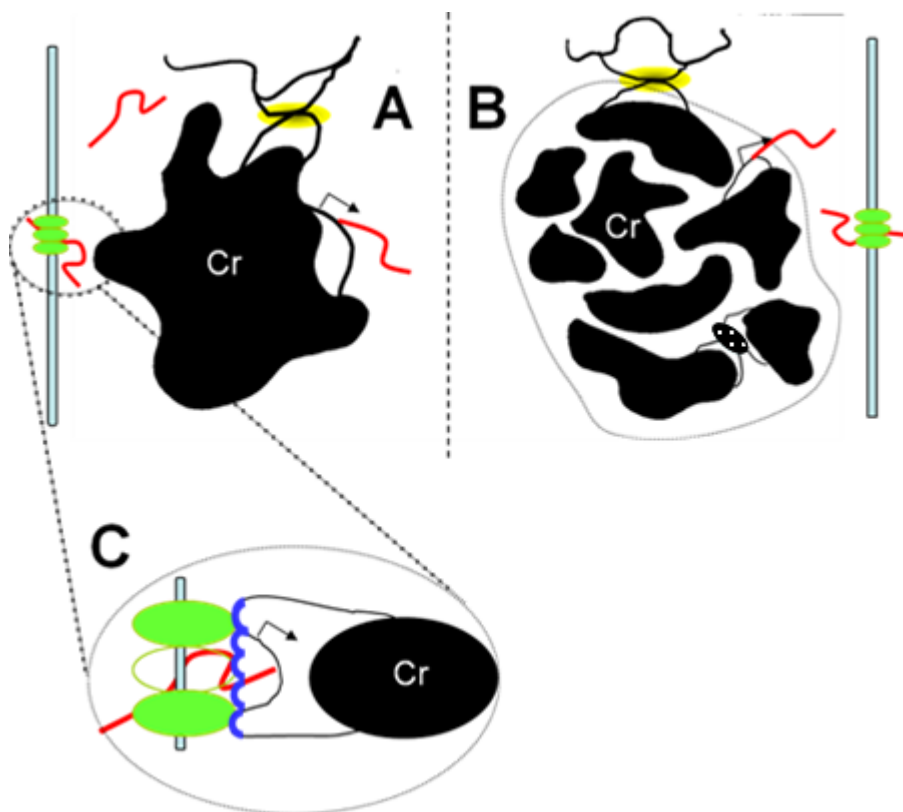


Figura 3. Modelos de actividad transcripcional en un territorio cromosómico. A) un cromosoma (Cr) ocupa una región definida dentro del núcleo, localizando en la periferia del mismo a los genes que deben de ser transcritos a través de asas (—) o que permite la interacción con otras asas del mismo cromosoma o de otro (área amarilla ●, ●). B) Modelo de canales intercromatinianos propone que dentro del territorio (región punteada ○) una serie de canales dentro de los cuales los genes son transcritos (—). EN todos estos modelos se usan estos vía o canales para enviar el ARN mensajero hacia el exterior del núcleo vía los poros nucleares (○). C) Existe evidencia de que elementos en cis (insulators C) son capaces de re-localizar secuencias a regiones cercanas a los poros nucleares, creando dominios transcripcionalmente activos y facilitando el transporte de los RNA al citoplasma.

real y apegada a su contexto natural. De esta manera, nos encontramos ante la necesidad de puntualizar que los modelos aquí descritos constituyen los inicios dentro del objetivo de entender la organización nuclear y su dinámica. Por lo tanto, los conceptos aquí planteados se encuentran en constante evolución y los modelos pueden variar, sobretodo en función de los avances tecnológicos. Consecuentemente, estamos frente a un campo de investigación con un amplio e insospechado futuro.

Dinámica nuclear

Una de las preguntas que se plantean de manera recurrente es ¿Cómo se lle-

va a cabo el tránsito de moléculas al interior del núcleo? Las predicciones teóricas y experimentales son dos: la primera contempla la participación de transportadores o moléculas chaperonas, las cuales serían las responsables de escoltar a otras proteínas a sus sitios de acción. La segunda predicción toma en consideración la difusión libre de moléculas, permitiendo el reconocimiento y discriminación de sus secuencias de unión a través de sus distintas afinidades. Resultados experimentales, utilizando una novedosa metodología de recuperación de fluorescencia después de un fotoblanqueo por rayo láser (conocida como FRET), han permitido eva-

luar el tránsito y movimiento de moléculas al interior de núcleo en tiempo real. Con base en los tiempos de desplazamiento calculados, la mayoría de los datos apoyan la libre difusión de moléculas al interior del núcleo y sugieren que el encuentro con sus sitios de acción se logra mediante la afinidad entre moléculas. Aun con el conocimiento actual, varias preguntas siguen sin resolverse, como por ejemplo la localización y concentración real de los factores necesarios para la expresión génica y otros procesos moleculares dentro del núcleo.

Considerando los primeros estudios bioquímicos sobre la organización del genoma de distintos organismos, recientemente, surge una novedosa propuesta sobre la localización y eficiencia de la transcripción dentro de un cromosoma. Dicha propuesta considera 3 factores determinantes para la adecuada regulación dinámica de los genes, 1) la organización lineal de los genes a lo largo del cromosoma, 2) su localización a lo largo del cromosoma y 3) su relación con la estructura de la cromatina (4-6). Evidencias experimentales preliminares sugieren un modelo en el cual grupos de genes organizados linealmente a lo largo de un cromosoma, pudieran coexistir y participar en vías comunes de regulación. Lo anterior ocurre sin importar la cercanía entre los dominios a expresarse y/o las regiones de heterocromatina que los separan. La funcionalidad de dicha organización favorecería la co-regulación de los genes, así como la probabilidad de compartir (incluso de forma inter-cromosomal) regiones específicas, con el fin de optimizar los recursos necesarios para la regulación, procesamiento y transporte de los productos de la expresión de los genes. Complementado el modelo, la predicción contempla la coexistencia de dominios cromosómicos entre cromosomas. Todo lo anterior apoya

el concepto de dinámica nuclear basado en una clara interdependencia de múltiples procesos que ocurren a distintos niveles.

Un aspecto novedoso, particularmente atractivo y que forma parte de la dinámica nuclear, es la organización del genoma en dominios y su asociación topológica al interior del núcleo. Utilizando como modelo a la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, se han identificado secuencias de ADN que delimitan ciertas regiones que incluyen uno o varios grupos de genes y que en inglés se conocen como "insulators" o "chromatin boundary elements" y que puede considerarse como delimitadores. En la actualidad estas secuencias han sido definidas en diversos organismos tales como levadura, pollo, ratón y seres humanos (7). Los elementos delimitadores contribuyen a la formación y mantenimiento de dominios génicos a través de definir zonas en el genoma donde un gen o grupo de genes son enmarcados por este tipo de elementos regulatorios y de esta forma adquieren una conformación de la cromatina favorable para su transcripción (8, 9). Cabe recalcar que no todos los genes o dominios poseen secuencias (con sus factores transcripcionales asociados) tipo "insulator". En una serie de publicaciones recientes, Corces y colaboradores, utilizando al "insulator" *gypsy* de *D. melanogaster*, han propuesto que las proteínas asociadas a éste, Su(Hw) y mod(mdg4) forman complejos mediante múltiples interacciones en forma de roseta las cuales se asocian a la periferia del núcleo y contribuyen de manera topológica a la formación de asas de cromatina abarcando decenas e incluso centenas de kilobases de secuencia genómica (Fig. 4C) (8). Este tipo de asociaciones induce una citolocalización y topología específica del genoma al interior del núcleo. De manera interesante, cuando las asas y sus genes asociados se encuen-

tran en un estado transcripcionalmente inactivo, las zonas más alejadas a las bases de las asas interaccionan con proteínas represoras. Por el contrario, al activarse la transcripción, dichas proteínas represoras se disocian y las asas parecen migrar hacia la periferia del núcleo con la consecuente activación transcripcional de los genes incluidos en ellas. Este escenario parece ser consistente con el modelo de co-regulación y dinámica nuclear descrito anteriormente. Otro ejemplo está dado por la co-localización de los telómeros de levadura en la periferia del núcleo, con consecuencias directas en la estabilidad de su genoma e incluso control de su ciclo celular. Finalmente, el grupo de Felsenfeld ha demostrado recientemente un proceso análogo al descrito para el "insulator" *gypsy* en el cual la proteína asociada al "insulator" CHS4 de pollo, conocida como CTCF, quién es un factor transcripcional multi-funcional y que se asocia a la gran mayoría de los "insulators" en vertebrados, se une a la nucleofosmina (proteína asociada a la matriz nuclear), pero en lugar de ocurrir en la periferia del núcleo esta interacción se lleva a cabo en la región perinucleolar. Cabe mencionar, que los modelos propuestos para el "insulator" *gypsy* han sido parcialmente corroborados por el grupo de Laemmli y colaboradores mediante una aproximación genética en levadura (9).

En resumen, existen evidencias que demuestran que las secuencias no-codificantes en el genoma contribuyen a la formación de una topología favorable para el control de la expresión genética involucrando claramente a la organización tridimensional del núcleo. Lo anterior apoya sin duda alguna la contribución de la organización del núcleo dentro de la regulación de procesos moleculares y celulares vitales propio de la célula.

Re-localización al interior del núcleo

Una de las demostraciones más claras de la dinámica nuclear y su efecto directo sobre la regulación de la expresión genética son los procesos de re-localización de regiones genómicas al interior del núcleo. En la actualidad se han demostrado tres estrategias que la célula eucarionte utiliza para modular la expresión o no de un dominio génico vía re-localización de secuencias o proteínas específicas a distintos compartimientos nucleares. Históricamente, la primera estrategia fue descrita en linfocitos T e involucra a la proteína Ikaros. Esta es una proteína nuclear cuya función se restringe a etapas en las cuales ciertos genes del linaje linfóide necesitan ser reprimidos. La contribución funcional de Ikaros se basa en la capacidad que tiene para asociarse a secuencias específicas del genoma y re-localizar o redistribuirla la región de unión a zonas de heterocromatina en donde los genes se mantendrían silenciados. Dicho proceso es reversible, ya que cuando Ikaros se disocia de manera regulada de la heterocromatina centromérica, alejándose de ella, se facilita la activación transcripcional del dominio previamente silenciado. La pérdida de la influencia negativa de la heterocromatina favorece la subsecuente formación de un dominio transcripcionalmente activo mediante su re-localización a un nuevo sitio dentro del territorio cromosómico, usualmente regiones de eucromatina; muy probablemente el factor Ikaros es reubicado posteriormente o su función inhibida por otros mecanismos.

La segunda estrategia adoptada por la célula es la asociación de elementos de regulación a secuencias de heterocromatina. Los dos únicos ejemplos son el grupo de genes β -globina y el locus de los genes del receptor de células T (10, 11). El reemplazo de la región de control de locus (LCR) de

los genes β -globina en células eritroides por una región regulatoria específica de células B, provocó la asociación del dominio β -globina a regiones de heterocromatina centromérica. Por otro lado y mediante mecanismos aún desconocidos, estos genes al ser activados se alejan de la heterocromatina, favoreciendo la formación de un entorno de eucromatina que subsecuentemente facilita los pasos finos y locales de regulación transcripcional. En resumen, estos estudios han evidenciado varias estrategias que el genoma ha adquirido para secuestrar regiones de ADN a zonas no permisivas para la transcripción.

Finalmente, la tercera estrategia no incorpora directamente al ADN o a la cromatina. Este proceso tiene que ver con la re-localización y posterior formación de factores transcripcionalmente funcionales. El factor de la familia Maf, NF-E2, es un regulador transcripcional crítico para el desarrollo y la diferenciación eritroide formado por dos subunidades, p18 y p45. En su conformación activa, forma un heterodímero constituido por la subunidad p18 (ubicua) y la subunidad p45 (eritroide específica). En etapas tempranas y previas a la diferenciación eritroide el heterodímero no se forma, dado que la subunidad NF-E2p18 se encuentra "secuestrada" en zonas de heterocromatina. Por el contrario, al iniciarse la diferenciación eritroide la subunidad p18 se disocia y se re-localiza, alejándose de las zonas de heterocromatina (12). Esto trae como consecuencia la formación del heterodímero NF-E2p18/p45 y la subsecuente activación del factor, logrando así su participación en la expresión de genes eritroides, en particular, de los genes globina.

En resumen, los procesos de re-localización al interior del núcleo en una célula eucarionte nos presentan un amplio panorama de investigación, en donde podemos preguntarnos ¿qué tan

generales y conservados son estos mecanismos?, ¿cuántos y qué genes o grupos de genes están sujetos a este tipo de estrategias?

Contactos inter- e intra-cromosómicos

Investigaciones recientes han demostrado que al interior del núcleo se forman asas de cromatina que favorecen contactos físicos entre un mismo cromosoma e incluso entre cromosomas distintos (13-16). Mediante el desarrollo del protocolo experimental llamado "Captura Conformacional de Cromosomas" o 3C ha sido posible demostrar la existencia de estos contactos físicos que favorecen muy probablemente una topología del genoma organizado en cromatina para llevar a cabo procesos de regulación a distintos niveles y de manera específica en tiempo y en espacio. Lo anterior se ve apoyado por la función del factor nuclear CTCF el cual se ha propuesto contribuye a la formación de asas de manera regulada como en los casos de las interacciones intra-cromosómicas del locus improntado *Igf2/H19* (15), en el dominio β -globina de ratón (17) o en los loci *Igf2/H19* y *Wsb1/Nf1* (14). Por lo tanto, estos resultados fortalecen la contribución del núcleo, su dinámica y la organización del genoma eucarionte en los múltiples niveles de regulación epigenética.

Conclusiones y perspectivas

La visión actual del núcleo dista mucho de ser sencilla, por el contrario, el núcleo eucarionte ha mostrado ser tan complejo como cualquier otro organelo celular y por lo tanto no representa un simple contenedor de la información genética. Este ha mostrado que para realizar sus funciones tiene que ser eficiente en la organización dinámica del genoma en coordinación con varias estructuras o sub-organelos necesarios para la homeostasis celular. El mejoramiento de la microscopía

óptica así como del desarrollo de técnicas de marcaje fluorescentes de moléculas ha permitido retomar los estudios citológicos de los procesos celulares. La implementación de metodologías *in vivo* permite determinar que la cromatina, y en especial los factores que regulan la expresión génica, poseen y dan flexibilidad de movimiento al interior del núcleo tanto al genoma como a sus componentes proteicos. Sin embargo, aun con dicha dinámica, los dominios génicos poseen una localización y organización específica causada en gran parte por las características estructurales que la cromatina adquiere en el contexto de un cromosoma. Éstas se encuentran definidas por el orden lineal de los genes y su distribución dentro de un mosaico heterogéneo de regiones de heterocromatina y eucromatina con aparente especificidad para cada estirpe celular. Nosotros, junto con otros grupos, proponemos que la formación inicial de estos tipos de cromatina resultan ser determinantes y necesarios para la expresión regulada de los genes. Por lo que el entender como se posicionan y organizan los cromosomas al interior de un núcleo es de gran relevancia para descifrar la compleja arquitectura nuclear y entender en un contexto más cercano a la realidad como ocurre la regulación génica (18).

La implementación de marcaje fluorescente multicolor ha permitido analizar a todos los cromosomas dentro de un núcleo, sin embargo al momento esto se hace *in situ*, por lo que el abordaje *in vivo* será fundamental para entender más de la organización y dinámica de los cromosomas y así como de otras estructuras nucleares. Asimismo, la continua generación de metodologías que permitan analizar la dinámica tanto de la cromatina como de los diferentes sub-organelos será indispensable para abordar preguntas más complejas sobre como la

cromatina se coordina con las estructuras sub-nucleares y entender más sobre su función.

Agradecimientos

Agradecemos a: Inti de la Rosa Velásquez, Mayra Furlan y Eria Rebollar por sus comentarios y sugerencias. Asimismo, agradecemos el

apoyo a Paulina Martínez para el diseño y creación de la figura 1, así como a Steve Kosak y Mark Groudine del Fred Hutchinson Cancer Research Center por proporcionar las micrografías de la figura 3 y a los revisores de esta revisión por sus atinados comentarios y sugerencias. Este trabajo ha sido apoyado por: Dirección General de Asun-

tos del Personal Académico-UNAM (IN209403 y IN214407), Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACyT (42653-Q y 58767), Third World Academy of Sciences (TWAS, Grant 01-055 RG/BIO/LA), y la Fundación Miguel Alemán. HRA fue apoyado por CONACyT con una beca de doctorado.

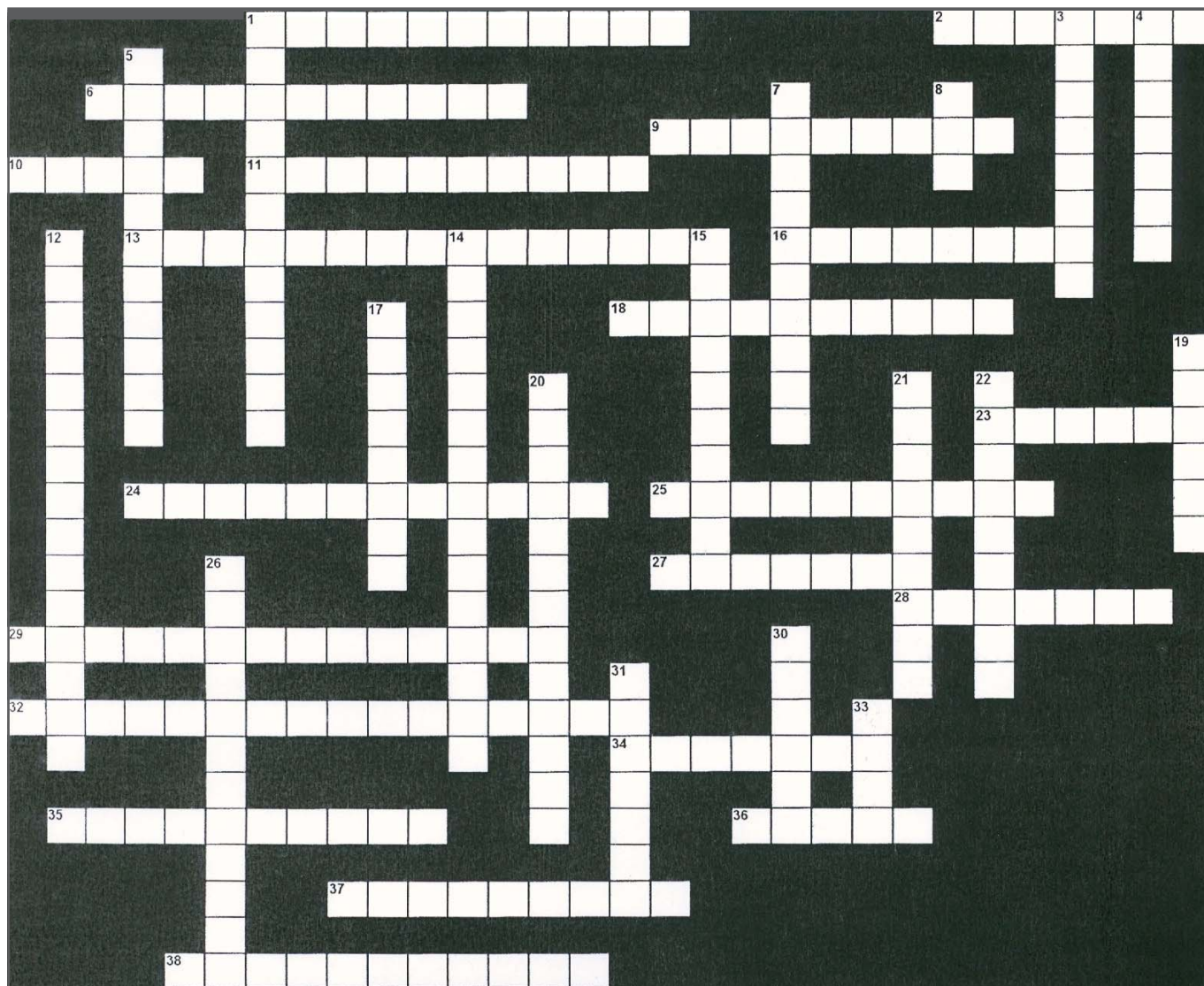
REFERENCIAS

1. Spector DL (2003) The dynamics of chromosome organization and gene regulation. *Ann Rev Biochem* 72: 573-608.
2. Cremer T, Cremer C (2001) Chromosome territories, nuclear architecture and gene regulation in mammalian cells. *Nat Rev Genet* 2: 292-301.
3. Lanctot C, Cheutin T, Cremer M, Cavalli G, Cremer T (2007) Dynamic genome architecture in the nuclear space: regulation of gene expression in three dimensions. *Nat Rev Genet* 8: 104-115.
4. Kosak ST, Groudine M (2004) Form follows function: the genomic organization of cellular differentiation. *Genes Dev* 18: 1371-1384.
5. Meaburn KJ, Misteli T (2007) Chromosome territories. *Nature* 445: 379-381.
6. Misteli T (2007) Beyond the sequence: cellular organization of genome function. *Cell* 128: 787-800.
7. Brasset E, Vaury C (2005) Insulators are fundamental components of the eukaryotic genomes. *Heredity* 94: 571-576.
8. Capelson M, V.G. Corces VG (2004) Boundary elements and nuclear organization. *Biol Cell* 96: 617-629.
9. Valenzuela L y Kamakaka RT (2006) Chromatin insulators. *Annu Rev Genet* 40: 107-138.
9. Valenzuela L y Kamakaka RT (2006) Chromatin insulators. *Annu Rev Genet* 40: 107-138.
10. Kosak ST, et al. (2002) Subnuclear compartmentalization of immunoglobulin loci during lymphocyte development. *Science* 296: 158-162.
11. Ragozzy T et al. (2003) A genetic analysis of chromosome territory looping: diverse roles for distal regulatory elements. *Chromosome Res* 11: 513-525.
12. Francastel CW, Magis H, Groudine M (2001) Nuclear relocation of a transactivator subunit precedes target gene activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 12120-12125.
13. Chakalova L, Debrand E, Mitchell JA, Osborne CS, Fraser P (1995) Replication and transcription: shaping the landscape of the genome. *Nat Rev Genet* 6: 669-677.
14. Ling JQ, Li T, Hu JF, Vu TH, Chen HL, Qiu XW, Cherry AM, Hoffman AR (2006) CTCF mediates interchromosomal colocalization between Igf2/H19 and Wsb1/Nf1. *Science* 312, 269-272.
15. Reik W, Murrell A, Lewis A, Mitsuya K, Umlauf D, Dean W, Higgins M, Feil R (2004) Chromosome loops, insulators, and histone methylation: new insights into regulation of imprinting in clusters. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 69: 29-37.
16. Fraser P y Bickmore W (2007) Nuclear organization of the genome and the potential for gene regulation. *Nature* 447: 413-417.
17. Splinter E, Heath H, Kooren J, Palstra RJ, Klous P, Grosveld F, Gljart N de Laat W (2006) CTCF mediates long-range chromatin looping and local histone modification in the γ -globin locus. *Genes Dev* 20, 2349-2354.
18. Schneider R, Grosschedl R (2007) Dynamics and interplay of nuclear architecture, genome organization and gene expression. *Genes Dev* 21: 302-304.

CRUCIBIOQ

METABOLISMO DEL ETANOL

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



HORIZONTALES

1 El consumo regular del etanol produce liberación de catecolaminas, cuando se frena radicalmente la ingesta se produce el síndrome de _____ en el que hay un déficit en la secreción de aminotransmisores

que ocasionan alteraciones neurovegetativas y mentales.

2 Se producen cuando el acetaldehído se une a otras moléculas como por ejemplo al glutatión o a S-adenosilmetionina ocasionando su depleción, la cual favorece la aparición de radicales libres y el desarrollo de la lipoperoxidación.

- 6 Ya que el etanol es capaz de cruzar esta barrera, se puede presentar el alcoholismo fetal en el caso de mujeres alcohólicas embarazadas.
- 9 Entre otros factores, éstos pueden alterar la eliminación del etanol ya que hay diferentes polimorfismos dependientes de la expresión de los alelos responsables de la síntesis de enzimas que lo degradan.
- 10 Se producen por la fermentación natural del jugo obtenido del prensado de las uvas gracias a las levaduras presentes y contienen de 9 a 14 % de etanol.
- 11 Esta deshidrogenasa (EC 1.2.1.3) produce acetato a partir de acetaldehído al mismo tiempo que reduce al NAD^+ ; en el hígado se encuentran dos isoenzimas, la citosólica y la mitocondrial.
- 13 La alcohol:NAD $^+$ _____ (EC 1.1.1.1) en el hígado, es la primera enzima en participar en la oxidación del etanol para producir acetaldehído.
- 16 Enzima contenida en los peroxisomas que produce acetaldehído a partir del etanol, tiene la función de alcohol deshidrogenasa inespecífica, mediante esta vía se reduce el peróxido de hidrógeno que se produce en los procesos celulares.
- 18 Es una de las vías de oxidación del etanol (MEOS) para producir acetaldehído, se realiza en el retículo endoplásmico cuando la ingesta alcohólica es muy elevada o crónica, utiliza como cofactor al NADP^+ y participa el citocromo P450.
- 23 Alcohol primario de bajo peso molecular, polar, soluble en agua y solventes orgánicos, en los mamíferos se encuentra presente entre 0.1 y 1.0 mM debido a que se produce gracias a la flora presente en el tracto gastrointestinal.
- 24 El acetaldehído separa al fosfato de piridoxal (vitamina B_6) de su proteína transportadora, como consecuencia se disminuye el GABA cerebral y se propician temblores y _____.
- 25 Este compuesto comercializado como Antabuse, se ha utilizado para la deshabituación alcohólica; compite con el acetaldehído por el NAD^+ que requiere la aldehído deshidrogenasa para su oxidación a acetato, como consecuencia se acumula el acetaldehído ocasionando alteraciones circulatorias (vasodilatación, enrojecimiento, calor cefalalgia, etc.) además de que inhibe la formación de noradrenalina lo que ocasiona hipotensión.
- 27 Esta acidosis se produce en la intoxicación alcohólica debido a que las dos deshidrogenasas participantes en la oxidación del etanol producen $\text{NADH} + \text{H}^+$ que van a reducir al piruvato.
- 28 Alcohol con función de vitamina A, su oxidación se realiza con la participación de la alcohol deshidrogenasa y del sistema MEOS; en individuos etanolizados, su catabolismo se encuentra favorecido y la disminución de la poza está asociada con fibrogénesis y proliferación de células hepáticas.
- 29 La piruvato _____ necesita magnesio y pirofosfato de tiamina para liberar CO_2 y sintetizar acetaldehído en el proceso de la fermentación alcohólica.
- 32 El consumo del etanol es uno de los factores que desencadenan este proceso, en el que por la producción de radicales libres se dañan los lípidos de las membranas.
- 34 Sensación que se produce aunada a una mayor interacción social cuando la concentración sérica de etanol está entre 60 y 100 mg/dL.
- 35 Es llamada también hígado graso, se caracteriza por la formación de vacuolas grasas dentro del hepatocito.
- 36 La dosis _____ de etanol en el 50% de los casos es de 5g/l, lo que equivale aproximadamente a una ingesta de 3 g/kg de peso corporal.
- 37 La concentración 1 _____ de etanol es la que contiene 4.6 mg/dL.
- 38 Hay una variedad de medicamentos que cuando se consumen simultáneamente con el etanol se bloquea su acción ya que funcionan como _____ de la aldehído deshidrogenasa, entre ellos se encuentran la fenacetina, las cefalosporinas, el cloramfenicol, las sulfamidas y la nitroglicerina.

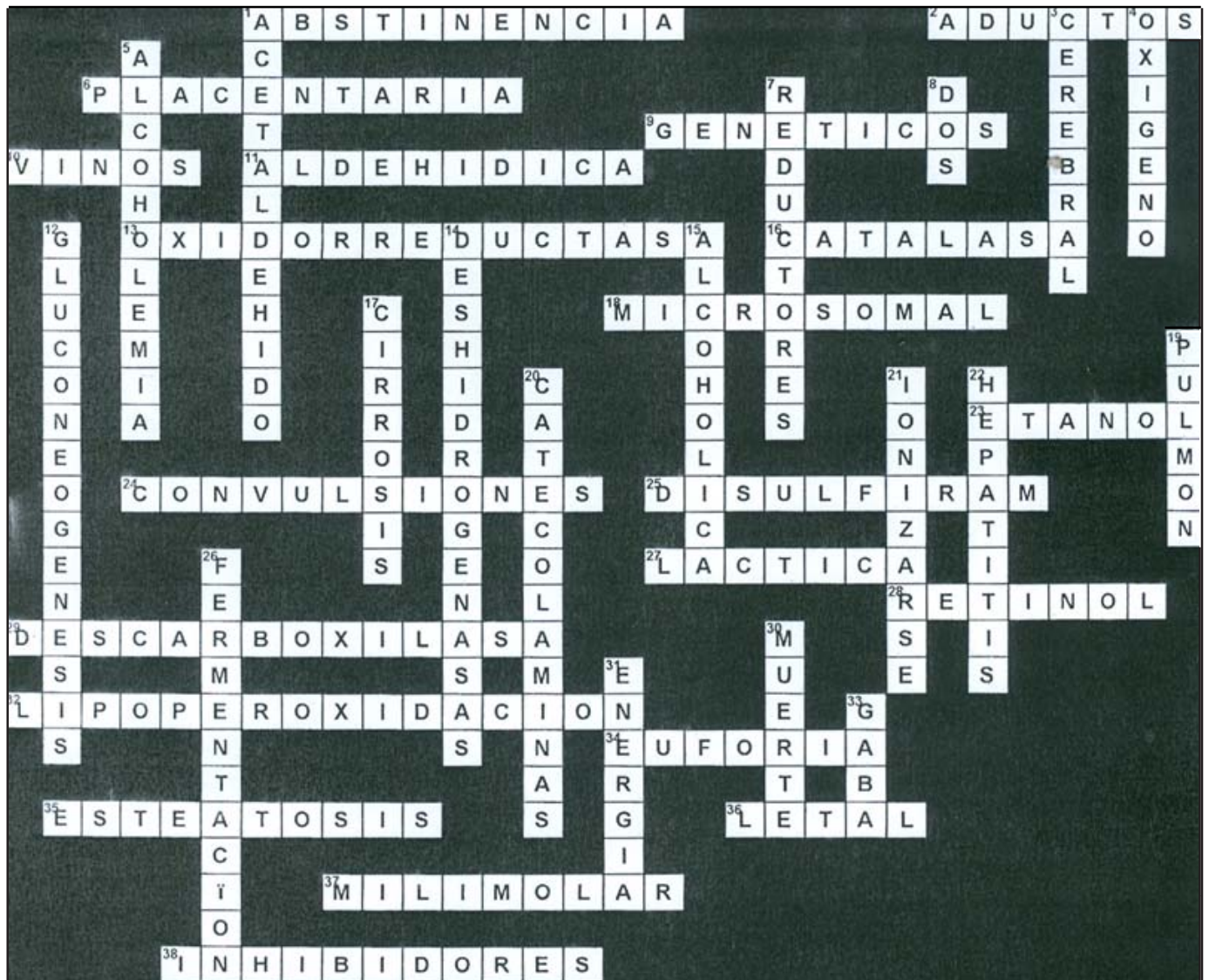
VERTICALES

- 1 Es el primer producto de la oxidación del etanol, esta reacción es catalizada por la deshidrogenasa alcohólica, por la catalasa y por la vía MEOS (del inglés microsomal ethanol oxidizing system), a concentraciones elevadas es mutagénico y teratogénico.
- 3 Aunque sólo una pequeña parte del etanol consumido es oxidado en este tejido, la producción local de acetaldehído puede ser responsable de alteraciones en la membrana neuronal.
- 4 El consumo excesivo de etanol conduce a la generación de radicales libres del _____ que son las especies desencadenantes del daño a la membrana de las células, aumentan la lipólisis y propician la disminución de glutatión reducido.
- 5 Se mide en el aire espirado y según el coeficiente de partición del etanol en aire/agua la correspondencia

- de alcohol en sangre y en aire se realiza aceptando la razón 2.1:1, que es la cantidad de alcohol presente en 2.1 ml de aire alveolar, equivalente al alcohol en un mililitro de sangre.
- 7 La gran cantidad de equivalentes _____ que se producen en el catabolismo del etanol, son unos de los motivos del daño hepático ya que requieren gran cantidad de oxígeno lo que conduce a una hipoxia local relativa en la zona perivenular.
- 8 Número de hidrógenos que separa la deshidrogenasa alcohólica del etanol para reducir al NAD^+ .
- 12 La ingestión de etanol altera esta vía de síntesis de glucosa ya que los equivalentes reductores se emplean para producir ácido láctico.
- 14 Ciertas isoenzimas de las _____ alcohólica y aldehídica se encuentran ausentes en grupos étnicos, por ejemplo algunos orientales, lo que ocasiona su intolerancia a la ingesta alcohólica.
- 15 La graduación _____ se expresa en mililitros de alcohol por 100 mililitros de líquido (% v/v).
- 17 Enfermedad crónica que se caracteriza por la alteración en la arquitectura hepática donde hay la sustitución de los hepatocitos necrosados por tejido fibrótico que conducen progresivamente a la pérdida de la función del hígado.
- 19 Órgano al cual accede el etanol proveniente del torrente sanguíneo, al vaporizarse permite determinar la concentración sérica del alcohol en el aire exhalado.
- 20 En individuos asiáticos que presentan enrojecimiento facial durante la intoxicación alcohólica, se ha encontrado una asociación entre el acetaldehído y las aminas de este grupo que son liberadas por la corteza suprarrenal.
- 21 Dado que el etanol no puede _____, el pH de los compartimentos del tracto digestivo permanece inalterable cuando se ingieren bebidas alcohólicas.
- 22 La _____ alcohólica se manifiesta por ictericia, trastornos en la coagulación, ascitis, várices esofágicas y encefalopatías, el 20% de los pacientes con este cuadro, pueden recuperarse con abstinencia y dieta adecuada.
- 26 Proceso realizado por las levaduras y otros microorganismos en el que la glucosa se degrada hasta piruvato y posteriormente se sintetiza etanol.
- 30 Esta se puede producir por fallo respiratorio cuando un individuo consume de 5 a 8 gramos (6 a 10 mililitros) de etanol puro por kilo de peso corporal.
- 31 La cantidad de _____ que proporciona el etanol es de 30 kJ/g (7.2 kcal); de ahí que ante la ingesta de bebidas alcohólicas los requerimientos energéticos se resuelven en parte, pero sin aporte de nutrientes.
- 33 Siglas del ácido gamma aminobutírico, que en la intoxicación aguda por etanol se potencia su acción favoreciendo el flujo de Cl^- en el interior de las neuronas, de ahí la hiperpolarización y disminución de la excitabilidad, lo que explica en parte la depresión del sistema nervioso central.

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ METABOLISMO DEL ETANOL

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



INFORME DE ACTIVIDADES REALIZADAS DURANTE EL XVI CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A. C. (2008)

El XVI Congreso de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica se llevó a cabo los días 4 y 5 de Agosto del 2008.

La sede del Congreso fue el Aula Magna "Jacinto Pallares" de la Facultad de Derecho de la UNAM.

El día 4 se presentaron las siguientes Conferencias Magistrales:

"Linfocitos T CD57+: ¿Héroes o villanos? Por la Dra. María del Carmen Jiménez, del Instituto de Oftalmología, Fundación de Asistencia Privada Conde de Valencia I. A. P.

"Anticuerpos Terapéuticos". Por el Dr. Alejandro Alagón Cano, del Instituto de Biotecnología de la UNAM.

"Las Interfases en las Enzimas Oligoméricas",. Por el Dr. Armando Gómez Puyou, del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM.

El día 5 se presentaron las siguientes Conferencias Magistrales:

"La Bioquímica de la Memoria". Por el Dr. Carlos de Jesús Rodríguez Ortiz, del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM.

"Participación de Canales Iónicos en la Fisiología del Espermatozoide. Por el Dr. Alberto Darszon Israel, del Instituto de Biotecnología de la UNAM.

"Respondiendo una Pregunta Hecha Hace un Siglo: El Transporte Epitelial. Por el Dr. Marcelino Cerejido Mاتيoli, del Centro e Investigación y Estudios Avanzados del IPN.

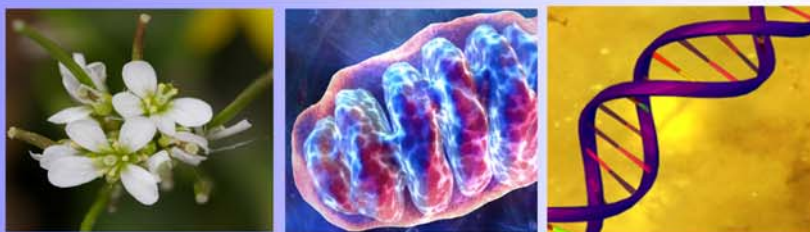
Durante el Congreso, hubo dos sesiones de carteles en las que se presentaron un total de 33 trabajos de los siguientes estados:

Aguascalientes	1
Estado de México	2
Guanajuato	1
Distrito Federal	24
Michoacán	1
Nuevo León	1
Oaxaca	1
Puebla	1

Las Memorias del Congreso se publicaron en la página de Internet de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica <http://www.ampbac.org/> en las que se incluyen las versiones *in extenso* de los trabajos presentados por los participantes en el Congreso.

Leonor Fernández Rivera-Río
Presidenta.

Fourth Workshop in Comparative Aspects of Oxidative Stress in Biological Systems



In its Fourth Edition, the Workshop brings together again national and international researchers and specialists in the Oxidative Stress field. The Conferences given at the Workshop will include the following:

Dr. Victor Darley-USmar - University of Alabama, Birmingham, USA.

Dr. Evgeny Nudler - New York University Medical Center, USA.

Dr. Paolio Di Mascio - Universidade de São Paulo, Brasil.

Dr. Ali Syed - National Center for Toxicological Research, Arkansas, USA.

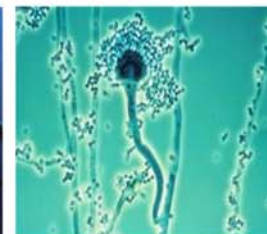
Dr. José Carlos Fernández-Checa - Hospital Clínico, C/Villarreal, Spain.

Dr. V.I. Lushchak - Precarpatian National University, Ukraine.

Dra. Marisa Medeiros - Universidade de São Paulo, Brasil.

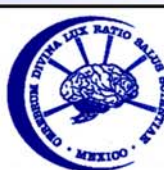
ORGANIZING COMMITTEE:

Mina Konigsberg Fainstein mkf@xanum.uam.mx
 Abel Santamaría del Ángel absada@yahoo.com
 Julio Morán Andrade jmoran@ifc.unam.mx
 Luis E. Gómez Quiroz legg@xanum.uam.mx
 María del Carmen González Castillo
gonzalez.castillocarmen@fcq.uaslp.mx
 Tania Zenteno-Savín tzenteno04@cibnor.mx



March 31-April 3, 2009 - Hotel Montetaxco - Taxco, Guerrero, Mexico

Website: <http://www.cibnor.gob.mx/eplant1.php?pagID=anuncios/oxistress/index>



ÍNDICE ANUAL DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 2008

AUTORES DE EDITORIALES

Fernández Rivera-Río Leonor y Calderón Salinas José Víctor. (2008) Decidido apoyo de la Facultad de Medicina a la Revista de Educación Bioquímica. REB 27(2):43

Fernández Rivera-Río Leonor y Juárez Oropeza Marco Antonio. (2008) La tecnología informática contribuye a facilitar el aprendizaje de bioquímica. REB 27(3):77-78

Meza Ruiz Graciela. (2008) Premio Nobel de Medicina 2008 a los descubridores del virus del SIDA y del papiloma humano en un tiempo record: por primera vez una mujer bioquímica francesa recibe esta presea. REB 27(4):109-110

Tusié Luna María Teresa. (2008) El origen multifactorial de la obesidad. REB 27(1):1-2

AUTORES DE LOS ARTÍCULOS

Bermúdez Aguirre Alejandro Daniel. (2008) Función de la proteasa NS3 del virus de la hepatitis C. REB 27(3):79-84

Coronel Núñez Samuel, Díaz García Rafael, Reyes Méndez Jorge Joel y Ramírez Alcalá Janette Eunice. (2008) Panorama de la educación bioquímica en la Licenciatura en Nutrición en México. REB 27(2):60-67

Fragoso Iñiguez Selene y Coello Coutiño Patricia. (2008) La AMPK y la homeostasis energética. REB 27(1):3-8

Gallegos Velasco Itandehui Belem, Coutiño Rocío, Martínez Gisela y Hernández Cruz Pedro. (2008) Marcadores glicosilados en cáncer de mama. REB 27(2):52-59

González Moreno Sergio, Perales Vela Hugo, Salcedo Alvarez Martha O. (2008) La fluorescencia de la clorofila *a* como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. REB 27(4):119-129

Luna-López Armando, López-Diazguerrero Norma Edith, González-Puertos Viridiana Yazmín, Triana-Martínez Francisco y Königsberg Fainstein Mina. (2008) El fantástico mundo de la proteína Bcl-2. REB 27(3):93-102

Mendoza Medellín Aurelio. (2008) El origen de la acidez en la glucólisis anaerobia. REB 27(4):111-118

Olivares Reyes Jesús Alberto y Arellano Plancarte Araceli. (2008) Bases moleculares de las acciones de la insulina. REB 27(1):9-18

Rendón-Anaya Martha y Alagón Alejandro. (2008) Mecanismos moleculares de diversificación de inmunoglobulinas. REB 27(1):19-29

Rincón Arano Héctor y Recillas Targa Félix. (2008) La arquitectura nuclear y su dinámica. REB 27(4):130-137

Salceda Sacanelles Rocío. (2008) Peroxisomas: Organelos polifacéticos. REB 27(3):85-92

Sánchez-Chávez Gustavo y Salceda Rocío. (2008) Enzimas polifuncionales: El caso de la acetilcolinesterasa. REB 27(2):44-51

AUTORES DE OTRAS COMUNICACIONES

Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C. (2008) XVI Congreso. REB 27(1):38

Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C. (2008) XVI Congreso. REB 27(2):72

Fernández Rivera-Río Leonor. (2008) Informe de Actividades durante el XVI Congreso de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica. REB 27(4):142

Fourth Workshop in Comparative Aspects of Oxidative Stress in Biological Systems. (2008) REB 27(3):107

Fourth Workshop in Comparative Aspects of Oxidative Stress in Biological Systems. (2008) REB 27(4):143

González-Morán María Genoveva. Editora (2008) Técnicas de laboratorio en biología celular y molecular. REB 27(2):75

Königsberg Fainstein Mina. Editora (2008) Radicales libres y estrés oxidativo. Aplicaciones médicas. REB 27(2):75

Rueda y Sánchez de la Vega Angélica. (2008) Regulación de los receptores de rianodina cardiacos por moduladores endógenos y exógenos: El caso del Ca²⁺ y la cafeína. Problema Bioquímico y su respuesta. REB 27(1):30-31, 35-36

Saldaña Balmori Yolanda. (2008) Obesidad. CRUCIBIOQ y su solución. REB 27(1):32-34, 37

Saldaña Balmori Yolanda. (2008) Estructura de las proteínas. CRUCIBIOQ y su solución. REB 27(2):68-71

Saldaña Balmori Yolanda. (2008) Biosíntesis de lípidos. CRUCIBIOQ y su solución. REB 27(3):103-106

Saldaña Balmori Yolanda. (2008) Metabolismo del Etanol. CRUCIBIOQ y su solución. REB 27(4):138-141

Sociedad Mexicana de Bioquímica, A.C. (2008) XXVII Congreso Nacional. REB 27(1):40

Sociedad Mexicana de Bioquímica, A.C. (2008) XXVII Congreso Nacional. REB 27(2):74

XXXV Taller de Actualización Bioquímica. (2008) REB 27(1):39

XXXV Taller de Actualización Bioquímica. (2008) REB 27(2):73

TÍTULOS DE EDITORIALES

Decidido apoyo de la Facultad de Medicina a la Revista de Educación Bioquímica. (2008) Fernández Rivera-Río Leonor y Calderón Salinas José Víctor. REB 27(2):43

El origen multifactorial de la obesidad. (2008) Tusié Luna María Teresa. REB 27(1):1-2

La tecnología informática contribuye a facilitar el aprendizaje de bioquímica. (2008) Fernández Rivera-Río Leonor y Juárez Oropeza Marco Antonio. REB 27(3): 77-78

Premio Nobel de Medicina 2008 a los descubridores del virus del SIDA y del papiloma humano en un tiempo record: por primera vez una mujer bioquímica francesa recibe esta presea. (2008) Meza Ruiz Graciela. REB 27(4):109-110

TÍTULOS DE LOS ARTÍCULOS

Bases moleculares de las acciones de la insulina. Olivares Reyes Jesús Alberto y Arellano Plancarte Araceli. REB 27(1): 9-18. 2008

El fantástico mundo de la proteína Bcl-2. Luna-López Armando, López-Diazguerrero Norma Edith, González-Puertos Viridiana Yazmín, Triana-Martínez Francisco y Königsberg Fainstein Mina. REB 27(3):93-102. 2008

El origen de la acidez en la glucolisis anaerobia. Mendoza Medellín Aurelio. REB 27(4):11-118. 2008

Enzimas polifuncionales: El caso de la acetilcolinesterasa. Sánchez-Chávez Gustavo y Salceda Rocío. REB 27(2): 44-51. 2008

Función de la proteasa NS3 del virus de la hepatitis C. Bermúdez Aguirre Alejandro Daniel. REB 27(3): 79-84. 2008

La AMPK y la homeostasis energética. Fragoso Iñiguez Selene y Coello Coutiño Patricia. REB 27(1):3-8. 2008

La arquitectura nuclear y su dinámica. Rincón Arano Héctor y Recillas Targa Félix. REB 27(4):130-137. 2008

La fluorescencia de la clorofila *a* como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. González Moreno Sergio, Perales Vela Hugo, Salcedo Alvarez Martha O. REB 27(4):119-129. 2008

Marcadores glicosilados en cáncer de mama. Gallegos Velasco Itandehui Belem, Coutiño Rocío, Martínez Gisela y Hernández Cruz Pedro. REB 27(2):52-59. 2008

Mecanismos moleculares de diversificación de inmunoglobulinas. Rendón-Anaya Martha y Alagón Alejandro. REB 27(1):19-29. 2008

Panorama de la educación bioquímica en la Licenciatura en Nutrición en México. Coronel Núñez Samuel, Díaz García Rafael, Reyes Méndez Jorge Joel y Ramírez Alcalá Janette Eunice. REB 27(2):60-67. 2008

Peroxisomas: Organelos polifacéticos. Salceda Sacanelles Rocío. REB 27(3): 85-92. 2008

TÍTULOS DE OTRAS COMUNICACIONES

Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C. Convocatoria XVI Congreso. REB 27(1):38. 2008

Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C. Convocatoria XVI Congreso. REB 27(2):72. 2008

Biosíntesis de lípidos. CRUCIBIOQ y su solución. Saldaña Balmori Yolanda. REB 27(3):103-106. 2008

Estructura de las proteínas. CRUCIBIOQ y su solución. Saldaña Balmori Yolanda. REB 27(2):68-71. 2008

Fourth Workshop in Comparative Aspects of Oxidative Stress in Biological Systems. REB 27(3):107. 2008

Fourth Workshop in Comparative Aspects of Oxidative Stress in Biological Systems. REB 27(4):142. 2008

Informe de Actividades durante el XVI Congreso de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica. Fernández Rivera-Río Leonor. REB 27(4):142. 2008

Metabolismo del Etanol. CRUCIBIOQ y su solución. Saldaña Balmori Yolanda. REB 27(4):138-141. 2008

Obesidad. CRUCIBIOQ y su solución. Saldaña Balmori Yolanda. REB 27(1):32-34, 37. 2008

Radicales libres y estrés oxidativo. Aplicaciones médicas. Editora: Königsberg Fainstein Mina. REB 27(2):75. 2008

Regulación de los receptores de rianodina cardiacos por moduladores endógenos y exógenos: El caso del Ca²⁺ y la cafeína. Problema Bioquímico y su respuesta. Rueda y Sánchez de la Vega Angélica. REB 27(1):30-31, 35-36. 2008

Sociedad Mexicana de Bioquímica, A.C. XXVII Congreso Nacional. REB 27(1): 40. 2008

Sociedad Mexicana de Bioquímica, A.C. XXVII Congreso Nacional. REB 27(2):74. 2008

Técnicas de laboratorio en biología celular y molecular. Editora: González-Morán María Genoveva. REB 27(2):75. 2008

XXXV Taller de Actualización Bioquímica. REB 27(1): 39. 2008

XXXV Taller de Actualización Bioquímica. REB 27(2):73. 2008

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.